

**Karyometrische Untersuchungen
zur Frage der Genese von experimentellen
Leberzirrhosen und Lebertumoren nach
chronischer Seneciovergiftung**

Otto Hebauer

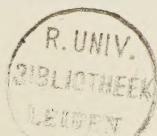
Aus dem Institut für Tierpathologie der Universität München
Vorstand: Professor Dr. Hans Sedlmeier

Karyometrische Untersuchungen zur Frage der Genese
von experimentellen Leberzirrhosen und Lebertumoren nach
chronischer Seneciovergiftung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Otto Hebauer
aus
Regensburg

München 1958



Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. K. Z i p f

Referent: Professor Dr. H. Sedlmeier

Tag der Promotion: 26. Februar 1958

Meinen lieben Eltern

Inhaltsverzeichnis

	Seite:
Einleitung	1
Literatur	2
a) Zellkerngrößen unter normalen Bedingungen	2
b) " unter verschiedenen physiologischen Bedingungen	4
c) " unter pathologischen Bedingungen	5
Eigene Versuche	7
a) Material	7
b) Methodik	8
c) Einzelheiten der Meßtechnik	12
d) Zur tabellarischen Auswertung von Kerngrößen	13
e) Darstellung der eigenen Versuchsreihe	14
f) Tabellen	16
Histologie von Gehirn, Milz und Herz	38
Literatur	38
a) klinische Erscheinungen	38
b) pathologisch-anatomische Veränderungen	39
c) histologische Veränderungen	39
Eigene Befunde	41
Diskussion	43
Zusammenfassung	47
Literaturverzeichnis	48
Lebenslauf	54



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Einleitung

Im Rahmen umfassender experimenteller Untersuchungen über die kausale und formale Genese der Leberzirrhosen und der reaktiven und blastomatösen Parenchymregeneration, wie sie derzeit am Institut für Tierpathologie der Universität München angestellt werden, war mir die Aufgabe zugefallen, die zellulären Umbauvorgänge am Leberparenchym einer mathematischen Auswertung zu unterziehen. Diese mathematische Auswertung sollte sich dabei vor allem auf die Kerngrößenklassen bei entartetem und bei regenerierendem Lebergewebe erstrecken, zumal ja von derartigen Gewebsveränderungen auch der Ausgang eines malignen Regenerates, d.h. also eines Leberkarzinoms, erwartet werden darf. Den vorliegenden Untersuchungen liegt nicht zuletzt der Gedanke zugrunde, neben der subjektiven, rein histologisch-gestaltlichen Auswertung der Leberveränderungen durch Ermittlung von Kerngrößenklassen objektive statistische Werte für eine Gesamtbeurteilung der Gewebsdignität zu erarbeiten.

Um ein möglichst zahlreiches und untereinander vergleichbares Zahlenmaterial zu erhalten, war mir gleichzeitig als vorbereitende Arbeit die Aufgabe gestellt, durch Verfütterung von Pflanzen aus der Gattung *Senecio*, (*S. vulgaris*, *S. jacobaea*, *S. paludosus*) über mehrere Monate die gewünschten Leberveränderungen zu erzeugen. Diese Fütterungsversuche an Ratten wurden zusammen mit Herrn A. Schamper durchgeführt, der in einer eigenen Dissertation (1958) vor allem die pathologische Anatomie und Histologie der chronischen Seneciovergiftung zu bearbeiten hat.

Somit wird in der vorliegenden Abhandlung auf rein histologische Probleme nur soweit eingegangen, als es für eine bessere Übersichtlichkeit dienlich ist. Der histologischen Untersuchung der übrigen Körperorgane wird zwar ein gewisser Umfang eingeräumt, doch dies nur als Ergänzung zu den Befunden der Schamper'schen Arbeit.

L i t e r a t u r

Karyometrische Zellkernuntersuchungen unter normalen Bedingungen

Lange Zeit spielten zahlenmäßige Größenangaben innerhalb der biologischen Forschung nur eine untergeordnete Rolle. In der Hauptsache dienten sie als Anhaltspunkt und zur Begrenzung gewisser Schwankungsbereiche gleichartiger Zellverbände.

Mit Überraschung und Skepsis wurde daher im Jahre 1925 die Arbeit von J a c o b j (23) "Über das rhythmische Wachstum der Zellen durch Verdoppelung ihres Volumens" aufgenommen. An Hand eines umfangreichen Materials wies J. nicht nur die Konstanz von Zellkerngrößen gleichartiger Gewebe nach, sondern klärte auch das Verhältnis der verschiedenen großen Zellen zueinander. Auf Grund seiner variationsstatistischen Auswertung ergab sich, daß die Volumina der Zellkerne von ein- und demselben Organ der Gesetzmäßigkeit einer geometrischen Zahlenreihe folgten, d.h. die Kernvolumina verhalten sich wie 1 : 2 : 4 : 8 : usw.

Dies entsprach völlig der von H e i d e n h a i n (15) erstmals aufgestellten Wachstumsformel $\frac{MK}{MP}, \frac{2 MK}{2 MP}, \frac{4 MK}{4 MP}$, welche besagt, daß beim regelrechten Zellwachstum sich jeweils die ganze Masse des Kerns (MK) und Zellplasmas (MP) gleichmäßig verdoppelt.

Von dem außerordentlich umfangreichen, über Jahrzehnte sich erstreckenden Untersuchungsmaterial an Mensch und Tier verdienen im Zusammenhang mit den eigenen Untersuchungen die Verhältnisse an Rattenlebern besondere Beachtung. So geht Jacobj bei seinen Berechnungen von der Tatsache aus, daß die Kernformen der Mäuse- und Rattenlebern der Idealform einer Kugel nahezu gleichkommen. Folglich kann nach Bestimmung des Kerndurchmessers sowohl die Kernoberfläche als auch das Volumen berechnet werden. Für die Bestimmung des Durchmessers verwendet Jacobj ein Okularmikrometer. Der Unterschied einzelner Kerngrößen drückt sich somit in Mikrometerintervallen aus, wobei ein Intervall $1 T = 0,625 \mu$ darstellt. Zur Vermeidung von Fehlern bei der Abweichung von der Kugelform werden jeweils die beiden zueinander senkrecht stehenden Durchmesser bestimmt und bei Differenzen der Mittelwert errechnet. Die Auswertung des Zellbildes ist aus folgendem Schema zu entnehmen:

[illegible]

Wie aus der Tabelle ersichtlich, unterscheiden sich die Kerne in 9 Größen. Aus der Häufigkeit der Zellen lassen sich 3 Maximapunkte ablesen, die die Regelklassen eines Gewebes darstellen. Die Berechnung der Volumina und ihr Verhältnis zueinander führt zu der Erkenntnis der Volumensverdoppelung der Regelklassen. Die Richtigkeit dieser Beobachtungen werden durch weitere Untersuchungen an der Leber des Menschen bestätigt. Hierbei ermittelt Jacobj eine Variationsbreite von $4,4\mu$ bis $11,25\mu$ bei insgesamt 12 verschiedenen Kerngrößen, wobei die Gipfelpunkte bei $6,25\mu$ und $8,1\mu$ liegen. Ein nur schwach in Erscheinung tretender 3. Gipfelpunkt bei 10μ läßt sich durch die Sonderauszählung der offensichtlich großen Kernformen verdeutlichen.

Die Gesetzmäßigkeit der Volumensverdoppelung stand nach der systematischen Untersuchung von 36 verschiedenen Zellarten außer Zweifel. Eine Bestätigung erfolgte durch zahlreiche namhafte Forscher, wie B ö h m (2), C l a r a (6), H e r t w i g (17), F i s c h e r (10), L e i s t n e r (26), F r e e r k s e n (11), V o s s (41) u.a.

Eine besondere Beachtung verdient die Arbeit von V o s s (41) über "Die Kerngrößenverhältnisse in der Leber der weißen Maus". V. variiert das Meßverfahren und bedient sich, wie auch Jacoby für die erwähnten Untersuchungen beim Menschen, des Abbéschen Projektionsapparates. Die einzelnen Kerne werden hier im Mikroskop mit Hilfe der Mikrometerschraube auf ihre größte optische Durchschnittsfläche eingestellt und die Projektion aufgezeichnet. Bei Differenzen der beiden senkrecht zueinander stehenden Durchmesser gilt

dessen arithmetisches Mittel. Die Größenbestimmung der aufgezeichneten Kerne gestattet eine gute Unterteilung in Intervalle von 5 T - 26,5 T, wobei sich letztlich 44 verschiedene Kerngrößen registrieren lassen. Daraus folgt eine in absoluten Maßen ausgedrückte Variationsbreite von $4,3 \mu$ - $23,1 \mu$.

Die Berechnung der Werte nach Voss brachte erneut eine Bestätigung des Volumenverdoppelungsgesetzes, denn die Maxima treten hier bei 9 T, $11,5 T$ und $14 T$ auf, was bei einem Vergleich der Volumina nahezu dem Idealfall der Verdoppelung gleichkommt. Bei jungen, bis zu $5 \frac{1}{2}$ Wochen alten Mäusen ist eine derartige Gesetzmäßigkeit offenbar noch nicht ausgeprägt.

In weiteren Arbeiten von Voss (40), Müller (28), Körner (24) u.a., die sich ebenfalls mit der quantitativen Auswertung der Kerngrößen befassen, wurde lediglich das bislang Verfahren der Ausmessung gezeichneter Flächen durch die Verwendung des Planimeters erweitert.

Die jüngste Bestätigung der von Jacoby aufgestellten Gesetzmäßigkeit der Volumensverdoppelung stammt von Hennig (16). An Hand eines völlig anderen Meßverfahrens, dem sog. Punktzählverfahren, auf das hier nicht näher eingegangen werden kann, verbessert H. die von Jacoby aufgestellten Werte. Durch die Ermittlung eines exakteren Intervallwertes ist es ihm möglich, die Volumensverdoppelung von Annäherungswerten auf absolute Übereinstimmung zu bringen. So konnte Hennig beispielsweise einen ursprünglich von Jacoby aufgestellten Intervallwert von $6,25 \mu$ auf $6,31 \mu$ verbessern. Damit änderte sich die Zahlenreihe $128 : 278 : 524 \mu^3$ in die neue mit den Werten $131 : 262 : 524 \mu^3$, d.h. in eine Zahlenreihe mit glatter Verdoppelung.

Untersuchungen unter verschiedenen physiologischen Bedingungen

Die meisten Arbeiten über die Proportionalität der Volumensverdoppelung lassen bei aller Exaktheit Angaben über Ausnahmen von diesen Gesetzmäßigkeiten vermissen. Abgesehen von Meßfehlern und Meßungenauigkeiten war die Frage noch unbeantwortet, ob äußere Faktoren, etwa Umweltseinflüsse, in der Lage sind, Abweichungen hervorzurufen. Dieser Gedanke veranlaßte G. Schrüfer (36) zu der Arbeit "Variationsstatistische Untersuchungen über die Kerngrößen in den Leberzellen der weißen Maus bei verschiedener Fütterung".

Für die Normalmaus ermittelt Sch. eine Variationsbreite zwischen T 10,5 ($6,124 \mu$) und T 25 ($14,625 \mu$). Die Maxima liegen bei T 12 ($7,02 \mu$),

T 15,0 (8,775 μ) und bei T 19 (11,115 μ). Nach der Volumensberechnung verhalten sich die Maxima wie 1 : 2 : 4 und stimmen somit mit den Angaben Jacoby's überein. Bei Hungermäusen zeigte sich infolge Fehlens großer Kernformen eine geringere Variationsbreite, sowie eine allgemeine Verkleinerung der Kerne. Von einigen Ausnahmen abgesehen ergibt sich ein Schwankungsbereich von T 9 (5,265 μ) bis T 16,5 (9,65 μ), wobei das dritte Maximum fehlt. Die Volumensberechnung erreicht nur annähernd das Verhältnis 1 : 2. Außerordentlich bemerkenswert erscheint die Tatsache, daß das als Regelklasse geltende und damit höchste Maximum II hier an die Stelle von Maximum I tritt. Analog dazu sind die Verhältnisse bei einseitiger Fütterung mit Speck; auch hier offenbart sich eine Verkleinerung der Zellen mit nur 2 Maxima, wobei Maximum II auf Kosten von Maximum I verringert erscheint. Eine gegenteilige Beeinflussung läßt sich bei Eiweißfütterung erreichen. Die kleinen Kerne verschwinden völlig, Maximum I und II bleiben an alter Stelle und Maximum III kommt nicht zum Ausdruck. Die Volumina verhalten sich nur annähernd wie 1 : 2. Nach Zuckerfütterung schließlich gleichen die Ermittlungen dem normalen Zellbild.

(Es muß allerdings hinzugefügt werden, daß sich die Fütterungsversuche nur über 6 Tage erstreckten.)

Untersuchungen unter pathologischen Bedingungen

Auf Grund der vorhergehenden Schilderungen gewinnt die Frage nach den Kerngrößenverhältnissen unter krankhaften Bedingungen zunehmend an Bedeutung. W e r m e l und I g n a t i e w a (42) berichten von einer Vergrößerung der Leberzellkerne weißer Ratten nach Verabreichung von Novarsanol und Trypanblau in hohen Dosen, wobei sich die Befunde beim Kontrolltier mit den Angaben Jacobys decken.

In Zusammenfassung der Befunde zeigte sich eine Vergrößerung aller Zellen um 30 - 50 %. In einzelnen Fällen wurde dieser Prozentsatz noch überschritten. Die Untersucher fanden, daß die Zunahme nicht allein auf einer Quellung, sondern vielmehr auf einer Vermehrung des Chromatins beruhen muß. Auch konnten sie eine Anpassung an das Gift beobachten. Nach der Ausscheidung desselben aus dem Organismus können die ursprünglichen Größenverhältnisse wieder eintreten.

Eine eingehende Betrachtung verdient eine neuere Arbeit von G. H i e r o -

n y m i (18), welche "Untersuchungen über die Kerngrößen von Leberzellen unter normalen und krankhaften Bedingungen an der weißen Maus" zum Gegenstand hat. Die Untersuchungsmethode weicht, abgesehen von der Fixierung mit Bouin-scher Lösung, kaum von der Jacobys ab. Für Kontrolltiere wurde eine Variationsbreite von $4,9\mu$ - $18,37\mu$ bei 12 Intervallen ermittelt. (Vergleichsweise die Werte J.: $5,625$ - $12,5\mu$.) Die Maxima liegen bei $8,57\mu$, $11,02\mu$ und $13,47\mu$. Die Volumensberechnung erfüllt mit minimalen Fehlern die von Jacoby aufgestellte Gesetzmäßigkeit.

Ein ähnliches Bild ergaben die Kernmessungen an Mäusen, die vier Wochen nach einer einmaligen Dosis von $10,0$ mg Alloxan zur Untersuchung kamen. Während die Variationsbreite und Größenanzahl sich geändert hatte, verlagerten sich die Maxima der Kerndurchmesser wie folgt:

Maximum I	von $8,57\mu$	auf $7,35\mu$
" II	" $11,02\mu$	auf $9,8\mu$
" III	" $13,47\mu$	auf $12,25\mu$

Aus der Volumensermittlung errechnet sich bei relativ großer Annäherung eine Volumensverdoppelung im Verhältnis $1 : 2 : 4$.

Anders dagegen verhielten sich die Leberzellkerne von Tieren, die nach Applikation einer einmaligen hochtoxischen Dosis von $30,9$ mg Alloxan innerhalb 2 Stunden spontan starben. Bei wiederum gleichbleibender Variationsbreite und gleichbleibender Anzahl von Größeneinheiten verschoben sich die Maxima der Kerndurchmesser zu Gunsten größerer Werte. Damit lag:

Maximum I	$8,57\mu$	bei $9,8\mu$
" II	$11,02\mu$	bei $14,7\mu$
" III	$13,47\mu$	bei $17,15\mu$

Die Kernvolumina erfüllen nun nicht mehr die Gesetzmäßigkeit einer Zahlenreihe im Verhältnis $1 : 2 : 4$, sondern nähern sich vielmehr einer solchen von $1 : 3 : 6$. Daran läßt sich zeigen, wie akute Vergiftungen eine Vergrößerung der Leberzellen nach sich ziehen.

Eigene Untersuchungen

Material

Für die Untersuchungen standen Rattenlebern zur Verfügung, die aus dem in Zusammenarbeit mit S c h a m p e r (35) durchgeführten Fütterungsversuch gewonnen wurden. Die Versuchsanordnung ist in der Vet. Diss. Schamper 1958 dargestellt und wird hier auszugsweise wiedergegeben.

"Junge weibliche Albinoratten aus Mischzuchten von durchschnittlich 91 g erhielten in langsam gesteigerten prozentualen Zumischungen täglich getrocknete und pulverisierte Pflanzenteile von *Senecio vulgaris*, *S. jacobaea* und *S. paludosus* zum Grundfutter. Die einzelnen Senecioarten wurden jeweils getrennt vor und nach der Blüte gesammelt, an der Luft ohne Sonnenbestrahlung getrocknet, zu mittelfeinem Pulver zerkleinert und an je eine Versuchsgruppe gefüttert. Es wurden nur Pflanzenteile verwendet, die gegebenenfalls auch für Nutztiere erreichbar sind. Jede der Versuchsreihen enthielt 25 Tiere. 10 Kontrolltiere wurden unter gleichen Bedingungen gehalten, erhielten jedoch kein Seneciopulver. Als Grundfutter fand ein hochwertiges Junghennenfuttermehl Verwendung. Dazu wurden täglich etwa 3 g Körnerfutter pro Tier gereicht und täglich etwas Salat oder Rüben.

Der Fütterungsversuch begann am 10.3.56 und endete am 15.12.56. Die prozentualen Seneciobeimischungen steigerten sich von 1/2 % Trockenmasse zu Versuchsbeginn bis zu 10 % bei Versuchsende. Der Gehalt an Seneciopulver wurde jeweils erhöht, sobald ein neuer Gewichtsanstieg bei den Tieren zu verzeichnen war.

Die überlebenden 40 Versuchs- und 8 Kontrolltiere wurden am 15.12.56 durch Äther getötet, um frisches Organmaterial für die histologischen Untersuchungen zu erhalten, zu einem Zeitpunkt, da die ersten Tiere an den Folgen der Vergiftung starben.

Bei einer Reihe von interkurrenten Verlusten ergab die bakteriologische Untersuchung eine Salmonellen-Infektion."

Zur karyometrischen Auswertung gelangten 24 der am Versuchsende noch lebenden Tiere. Von dem ursprünglichen Plan der chronologischen Entwicklung wurde abgegangen, da einerseits keine kontinuierliche Entwicklung zu erkennen

war, andererseits bei verendeten Tieren die Leber infolge autolytischer Prozesse erhebliche Zellveränderungen erfährt, J a c o b j (23) und M ü n - z e r (29).

Methode zur Kerngrößenbestimmung

C a s p e r s s o n, F r e d r i k s o n und T h o r s s o n (5) haben 1953 mit ihrer mikroplanimetrischen Messung ein einfaches und exaktes Verfahren zur Bestimmung unregelmäßiger Kernformen angegeben. Nachfolgend wird das Prinzip des Verfahrens, das von S a n d r i t t e r und H ü b o t t e r (33) in einigen Details modifiziert wurde, wiedergegeben.

Prinzip des Mikroplanimeters nach Caspersson.

In den Strahlengang eines Mikroskopes wird zwischen Okular und Objektiv eine Linse eingeschaltet, bei deren Bewegung eine virtuelle Bildverschiebung entsteht. Man kann das Bild eines Zellelementes so bewegen, daß ein im Okular angebrachtes Fadenkreuz den Rand des Objektes umfährt. An der Linsenfassung ist der Fahrarm eines Planimeters befestigt, so daß die Bewegung der Linse auf das Planimeter übertragen wird. Die umfahrene Fläche ist dann proportional der Planimeterablesung.

Das Verhältnis der gemessenen Fläche zum abgelesenen Planimeterwert ist von folgenden Faktoren abhängig:

1. Vom Abstand zwischen Okular und Linse, wenn der Abstand Linse-Objektiv konstant bleibt. Je weiter das Okular von der Linse entfernt wird, um so kleiner wird bei gleichbleibender Fläche der Planimeterwert.
2. Von der Stärke des Objektivs. Wird ein größeres Bild von einer bestimmten Fläche entworfen, so wird auch der erforderliche Linsenausschlag größer.
3. Von der Brechkraft der Linse. Bei hoher Dioptrienzahl werden die vom Objekt ausgehenden Strahlen stärker gebrochen und damit der Planimeterauschlag geringer.
4. Die Stärke des Okulars hat keinerlei Einfluß auf das Verhältnis der Meßfläche zum Planimeterwert. Ein stärkeres Okular vergrößert nur die Zellbestandteile und erleichtert das genaue Umfahren derselben.

Einzelheiten der Anordnung von Sandritter und Hübötter.

Das Mikroskop wird ohne Tubus dicht an der Unterseite einer durchbohrten Tisch-

platte montiert. (Abb.) Das Okular ist in eine vertikal verstellbare Haltevorrichtung eingesetzt. Damit ist eine Veränderung des Abstandes Okular-Objektiv möglich. Bei der Messung von Objekten verschiedener Größe (z.B. Nukleolus und Umfang einer ganzen Zelle) kann man durch Änderung der Okularhöhe das Mißverhältnis zwischen Linsendurchmesser und der Größe der Struktur ausgleichen. Caspersson hat diese Schwierigkeit durch Vorschalten verschieden starker Linsen behoben.

Das Fadenkreuz ist möglichst fein zu wählen, da sonst die Zellkonturen verdeckt werden.

Die verwendete Linse hat einen Durchmesser von 8 cm und eine Brechkraft von 0,5 Dioptrien. Die Linsenfassung ist starr am Fahrarm des Planimeters befestigt. Der Linsenmittelpunkt liegt in der Verlängerung des Fahrarms. Diese Anordnung hat nach unseren Erfahrungen keine Meßfehler zur Folge.

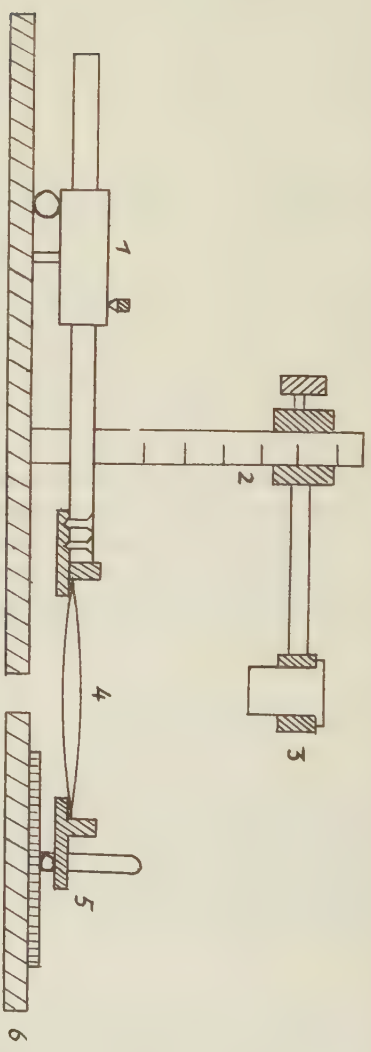
Ein in die Linsenfassung eingesetzter Führungsstift ist mit einer Stahlkugel versehen, die leicht in die Rille einer Metallunterlage einrastet. Diese Vorrichtung ermöglicht es, den Ausgangspunkt der Messung an der Peripherie des Objektes festzulegen und zeigt durch Einrasten des Führungsstiftes die Rückkehr zum Ausgangspunkt nach vollendetem Umfahren des Objektes an. Der Beobachter braucht während der Messung das Auge nicht vom Okular zu nehmen. Das Planimeter läuft auf einer Unterlage von feinem Schreibpapier. Die Fahrstabeinstellung wird möglichst kurz gewählt, um einen großen Ablesewert zu erhalten.

Eichung und Fehlerbreite

Zur Eichung verwendeten Sandritter und Hübötter die Quadrate einer Blutzählkammer, sowie Zellkerne bekannter Größe. Für jede Okularhöhe, die verschiedenen Objektive und verschiedenen Fahrstabeinstellungen wurden Eichkurven aufgestellt. Der mittlere Meßfehler beträgt 2,4 % (durchschnittliche Abweichung vom Mittelwert bei 50 Messungen der gleichen Fläche) und ist von der Größe des Objektes abhängig. Für Nucleolen liegt der Wert etwas höher, bei 4 - 8 %.

Durchführung der Messung

Die Linse wird in die optische Achse des Mikroskopes eingestellt, wobei der Führungsstift in die Rille der Metallunterlage eingerastet ist. Die Mitte des zu messenden Objektes wird mit dem Kreutztisch in das Okularfadenkreuz zentriert. Man führt nun die Linse in der Anschlagrille soweit seitwärts,



- 1 Planimeter
- 2 Verstellb. Haltevorrichtung
- 3 Okular
- 4 Linse mit Fassung
- 5 Führungsstift
- 6 Tischplatte
- 7 Mikroskop

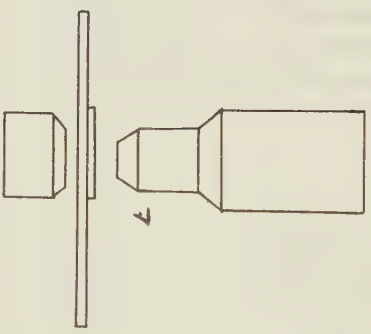


Abb.: Schematische Darstellung des Mikropianimeters nach Sandritter und Hübotter

bis der Rand des Objektes in der Fadenkreuzmitte steht. Die Planimeterablesung wird notiert. Jetzt führt man durch Bewegen der Linse das Fadenkreuz im Uhrzeigersinn um das Objekt herum, bis der Führungsstift wieder einrastet. Zweite Ablesung des Planimeters. Die Differenz der beiden Planimeterwerte ist proportional der gemessenen Fläche. Die absolute Flächengröße errechnet man mittels der Eichkurve. Das Kern- bzw. Nucleolenvolumen ergibt sich aus der Formel

$$V = \frac{4}{3} \pi \cdot r^3, \text{ wobei } r = \sqrt{\frac{F}{\pi}} \text{ ist. } F \text{ ist die gemessene Fläche.}$$

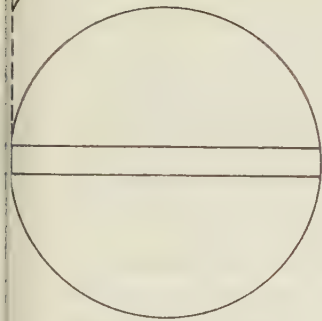
Soweit die Darstellung nach S a n d r i t t e r und H ü b o t t e r. Für die Untersuchungen der Leberzellkerne wurden von uns einige vorteilhafte Änderungen vorgenommen. So gestattet der Wegfall extrem kleiner oder großer Zellelemente die einmalige Einstellung der optimalen Okularhöhe. Die ausschließliche Verwendung des Ölimmersionsobjektivs, sowie die stets gleichbleibende Fahrstabeinstellung erübrigten darüber hinaus die Anfertigung von weiteren Eichkurven. Dadurch wird auch der mit 2,4 % angegebene mittlere Meßfehler, wie er sich bei Verwendung verschiedener Eichkurven ergibt, hinfällig. Die Rille in der Metallunterlage zur Aufnahme des Führungsstiftes ist bei unserer Versuchsanordnung durch eine punktförmige Delle ersetzt, wodurch ein Abweichen vom Ausgangspunkt auch innerhalb der Führungsrille ausgeschaltet ist. Eine Führungsrille ist umso entbehrlicher, als das Fadenkreuzokular durch ein Zeigerokular ersetzt wurde. Der bewegliche Okularzeiger ermöglicht ein exaktes Einstellen des Markierungspunktes auf die Kernkontur, als dies selbst durch Verwendung empfindlicher ~~Krautische~~ erreicht werden kann. Darüber hinaus kann die Zeigerspitze an jeder beliebigen Stelle der Kernmembran angesetzt werden und somit das Umfahren des zu messenden Objektes unmittelbar vom Markierungspunkt der Metallunterlage aus erfolgen. Das Einstellen des Planimeterwertes auf Null für jede neue Kerneinheit gestattet zudem ein rasches und bequemes Ablesen. Die Verwendung eines Okulares Zeiß K 8x anstelle eines Okulars Zeiß K 20x wird bei unserem Gerät durch das Ölimmersionsobjektiv in hohem Maße kompensiert.

Die Aufstellung der Eichkurve erfolgte ebenfalls mit Hilfe der Quadrate einer Blutzählkammer. Die durchschnittliche Abweichung vom Mittelwert bei 50 Messungen lag dabei etwa um 1,5 %.

Einzelheiten der Meßtechnik

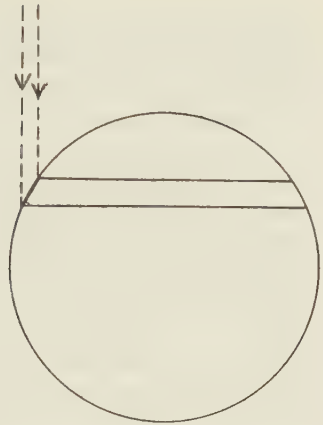
Zur planimetrischen Auswertung kamen ausschließlich Kerne mit gleichmäßig kräftiger Kontur. Kerne mit natürlichen Formveränderungen (Ellipsoidformen, Amöboidformen) wurden in gleichem Maße mitgewertet, nicht aber solche, deren Membran präparationstechnische Verletzungen oder Verzerrungen aufwiesen. Eine regionale Auswahl der Kerne erfolgte nicht; vielmehr wurden alle in Frage kommenden Kerne Reihe für Reihe durchgemustert, was ja mit Hilfe des Kreutztisches keinerlei Schwierigkeiten bereitet. Unberücksichtigt blieben jedoch die in unmittelbarer Nähe des Organrandes liegenden Kerne, da diese infolge der Fixierungseinflüsse kleiner sind, wodurch das echte Ergebnis beeinflusst worden wäre.

Als optimale Schnittdicke wurden 5μ gewählt, da hier selbst bei Verwendung der Ölimmersion noch keine Überlagerungen entstehen. Die Tatsache, daß der Durchmesser normaler Leberzellkerne ca. 7μ beträgt, schließt zwangsläufig das Erfassen des maximalen Durchmessers in den meisten Fällen mit ein. Als Färbung diente die Hämalun-Eosin-Färbung, da diese erfahrungsgemäß besonders scharfe Kernkonturen ergibt. Erheblich größere Kerne erfordern besondere Sorgfalt beim Aufsuchen des jeweils größten Kerndurchmessers, bzw. der Äquatorialebene. Nach P f u h l (31) sind Kernmittellonen gut von Kernkalotten zu unterscheiden. Die Kernmembranen erscheinen beim Einstellen auf die Mittelzone infolge Betrachtung des gesamten Querschnittes der Membran als kräftig dunkle Linien, die einen helleren Inhalt haben. Oberhalb und unterhalb der Mittelzone neigt sich die Kernmembran so stark zur Schnittebene, daß nur eine helle, unscharfe, breiter erscheinende Linie zustande kommt, während sich die im Inneren des Kernes befindliche chromatische Substanz auch in einer anderen Ebene scharf einstellt. Nachfolgendes Schema soll dies veranschaulichen.



a) Einstellung der Mittelzone

Kernkontur (K) erscheint als dunkle, schmale, scharfe Linie



b) Einstellung oberhalb der Mittelzone

Kernkontur (K) erscheint als helle, breite, nicht scharf einstellbare Linie

Das Aufsuchen einer anderen Ebene mit Hilfe der Mikrometerschraube wird, abgesehen von der Sehschärfe, im Fall a) kaum eine Flächenänderung, im Fall b) entweder eine erhebliche Abnahme oder aber eine Zunahme mit sich bringen.

Die tabellarische Auswertung von Kerngrößen

Zur Auswertung der Zellbilder erwies sich eine Einteilung in 3 Gruppen vorteilhaft:

- A Zellbilder normal gefütterter Ratten.
- B Zellbilder mit Senecio vergifteter Ratten ohne knotige Regeneration.
- C Zellbilder mit Senecio vergifteter Ratten mit knotiger Regeneration.

Während die Zellbilder normal gefütterter Ratten einen gleichmäßig homogenen Eindruck mit kaum erkennbaren Zellgrößenunterschieden machen, weichen die der Gruppe B und C erheblich davon ab. Von den bereits geschilderten histologischen Veränderungen (S c h a m p e r (35)) interessierten hier lediglich die Kerngrößenunterschiede. Infolge von Degenerations- und Proliferations-

prozessen ist das nomogene Bild verloren gegangen. Die einzelnen Kerne scheinen um ein Vielfaches vergrößert. Durch diese Vergrößerung der einzelnen Kerne nimmt ihre Anzahl pro Blickfeld an. Auffallend sind die Kerndeformationen, die von kreisrunden Formen über ausgeprägte Ellipsoid- nach unregelmäßig amöboiden Formen wechseln. Die bei Ellipsoiden auftretenden doppelten Projektionsflächen, nämlich eine größere mit ovaler Form und eine kleinere mit kreisrunder Form, die zur ersten senkrecht steht, lassen sich im histologischen Bild nicht unterscheiden. Für die Tabellenvergleiche ergibt sich daraus kein Fehler. Infolge der Unregelmäßigkeit der Kernformen erscheint auch eine Volumenerrechnung nicht zweckmäßig.

Regelklassen lassen sich aber auch aus Flächenwerten erkennen bzw. berechnen. Nach dem mathematischen Lehrsatz, daß sich die Volumina wie die dritten Potenzen ihrer Radien verhalten, folgt, daß sich die Flächen wie die Quadrate ihrer Radien verhalten. Diese Tatsache machten sich bereits B u c h e r und H o r r i s b e r g e r (4) in ihren karyometrischen Untersuchungen zunutze. Danach bleibt die geometrische Zahlenreihe wohl erhalten, während sich der Verdoppelungsfaktor verkleinert. Mathematisch ergibt sich hierfür der Faktor 1,5875. Die geometrische Zahlenreihe lautet

für die Volumina $1 : 2 : 2^2 : 2^3$
für die Fläche: $1 : 1,5875 : 1,5875^2 : 1,5875^3$

Zur statistischen Darstellung der Maxima eignet sich für diesen Fall das logarithmische Verfahren nach H i n t s c h e (19).

Trägt man nämlich auf der Abszisse statt der ermittelten Kerngrößen deren Logarithmen auf, so wird der Abstand zwischen den einzelnen Regelklassen, also von Klasse 1 nach Klasse 2, und von dieser nach Klasse 4 jeweils gleich groß. Darüber hinaus drängen sich die Streuwerte stärker zusammen und Maximum III tritt stärker in Erscheinung. Für die vorliegende Arbeit wurde dieses Verfahren aus noch näher zu erläuternden Gründen nicht benützt.

Darstellung der eigenen Versuchsreihe

Die planimetrische Messung ergibt für Kontrolltiere einen Variationsbereich von etwa 10 verschiedenen Größenordnungen, nämlich von Flächeneinheit $E = 5$ bis $E = 15$. Dieser Bereich ist bei der Darstellung von Flächengrößen sehr klein, wenn vergleichsweise Jacob (4) verschiedene Durchmesser angibt. So wird verständlich, daß die Maxima infolge Fehlens von Zwischenklassen nicht sichtbar

werden, sondern unmittelbar nebeneinander zu liegen kommen. Der Verzicht auf eine Unterteilung in kleinere Einheiten durch Verwendung eines anderen Planimetermaßstabes ergibt sich aus dem Vergleich der Kontrolltiere mit den Versuchstieren.

Die über 9 Monate sich erstreckende Seneciovergiftung verursachte eine völlige Änderung des Leber-Zellbildes. Die Variationsbreite umfaßt z.T. mehr als 60 verschiedene Größen, von $E = 6$ bis $E = 70$, d.h., daß der Bereich um das mehr als 6-fache wächst. Wollte man nun beispielsweise den Bereich der Kontrolltiere zur exakteren Darstellung verdreifachen, so würde sich im 2. Fall ein Bereich von ca. 200 Einheiten ergeben. Für die statistische Auswertung ist diese Unterteilung jedoch zu groß, da Tausende von Kernen gemessen werden müßten, die aber im jeweilig erforderlichen Äquatorialschnitt nicht zur Verfügung stehen.

Aus den Tabellen ist bei den seneciovergifteten Tieren eine Vergrößerung sämtlicher Leberzellen zu ersehen. Die Hauptmasse der Kerngrößeneinheit $E = 8$ der Normaltiere fehlt bei den Versuchstieren fast ganz, vielmehr liegt sie hier etwa bei $E = 16$. Von diesem einen Gipfel fällt die Kurve kontinuierlich bis zu den großen Werten bei $E = 74$. Jedes weitere Maximum fehlt und kommt auch nicht andeutungsweise zum Ausdruck. Deswegen erscheint uns auch die Darstellung der ermittelten Kerngrößen und nicht die ihrer Logarithmen gerechtfertigt. Auch erübrigt das Auftreten eines einzigen Maximums - der Ausdruck Regelklasse unterbleibt am besten - eine praktische Berechnung, gibt doch die Darstellung der Meßwerte bereits ein anschauliches Bild von der Häufigkeit der einzelnen Größen innerhalb des Variationsbereiches. Die Darstellung der Streuung der Extremwerte durch das logarithmische Verfahren würde verloren gehen.

Die in den Kurven auftretenden scheinbaren Spitzen einzelner Größeneinheiten dürfen keinesfalls als Maxima gewertet werden. Sie verschwinden, wenn zwei Größen addiert und dann halbiert werden.

Die in den Leberschnitten vorkommenden Regeneratknoten wurden bei der Ermittlung der Kerngrößen des eigentlichen Leberparenchyms nicht berücksichtigt. Sie wurden jeweils gesondert behandelt. Dabei hat sich die als interessante Beobachtung herausgestellt, daß sie sich größenmäßig annähernd mit normalem Lebergewebe vergleichen lassen. Ihr Variationsbereich erstreckt sich nämlich von $E = 6$ bis $E = 20$.

Unterschiede in der Art des gefütterten Kreuzkrautes und seiner wechsell-

den Giftigkeit vor oder nach der Blüte sind aus den Größenangaben nicht zu entnehmen. Es muß vielmehr eine unterschiedliche Reaktionslage des Einzel-individuums angenommen werden.

Tabellen

Die nachfolgenden Tabellen umfassen:

6 Kontrolltiere

10 Versuchstiere ohne knotige Regeneration des Leberparenchyms

8 Versuchstiere mit " " " "

Bei Kontrolltieren, sowie bei Regeneratknoten wurden jeweils 150 Kerne erfaßt, in allen anderen Fällen wurden 400 Kerne ausgemessen.

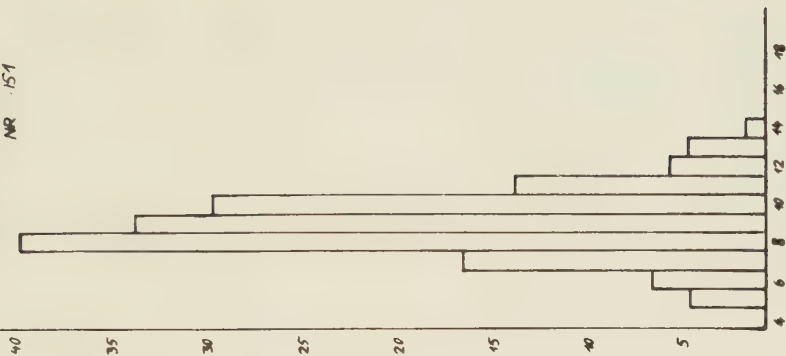
Die in den Tabellen auf der Abszisse genannten Zahlen bedeuten Flächeneinheiten. Auf Grund unserer Eichkurve ergibt sich der absolute Flächenwert:

$$1 E = 4,734 \mu^2.$$

Zur Orientierung kann man den Durchmesser aus der Flächenformel $F = r^2 \pi$, bzw. $D = 2 \sqrt{\frac{F}{\pi}}$ berechnen (D = Durchmesser = $2 r$).

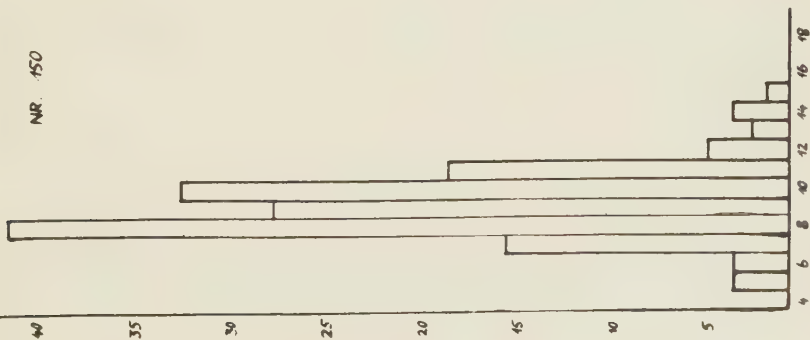
In den Tabellen der Versuchstierreihe ist jeweils die Kurve der Kontrolltiere als Schattenbild zum Vergleich angegeben.

NR 151



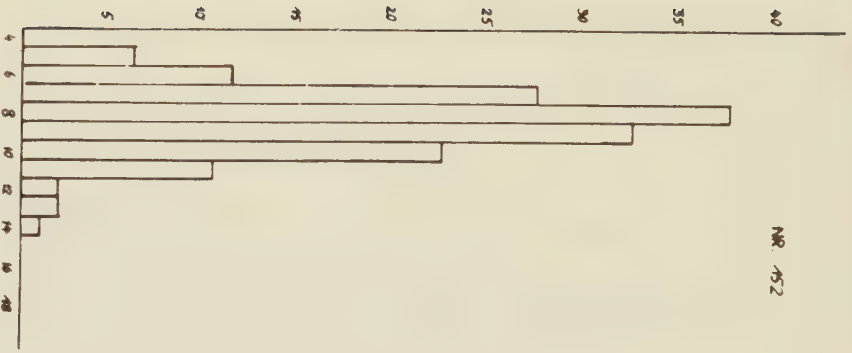
Ratte Nr. 151 Kontrolltier

NR 150



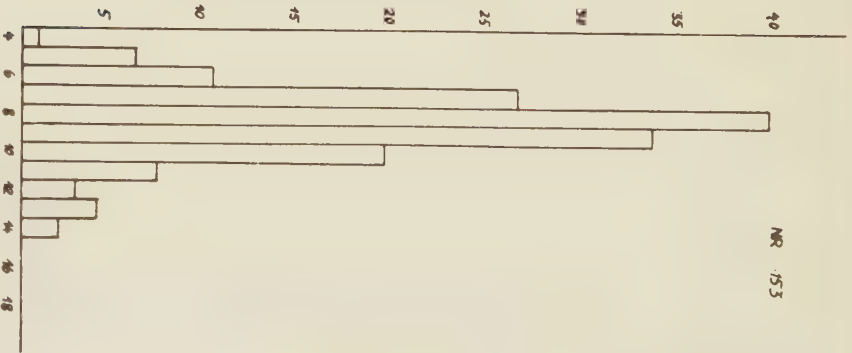
Ratte Nr. 150 Kontrolltier

NR 152



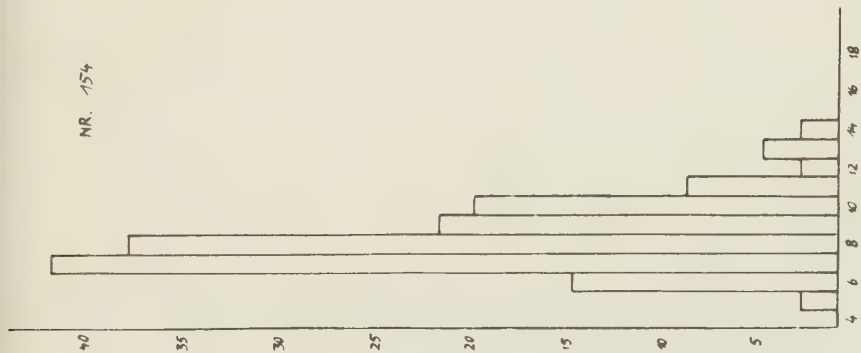
Ratte Nr.152 Kontrolltier

NR 153



Ratte Nr.153 Kontrolltier

NR. 154



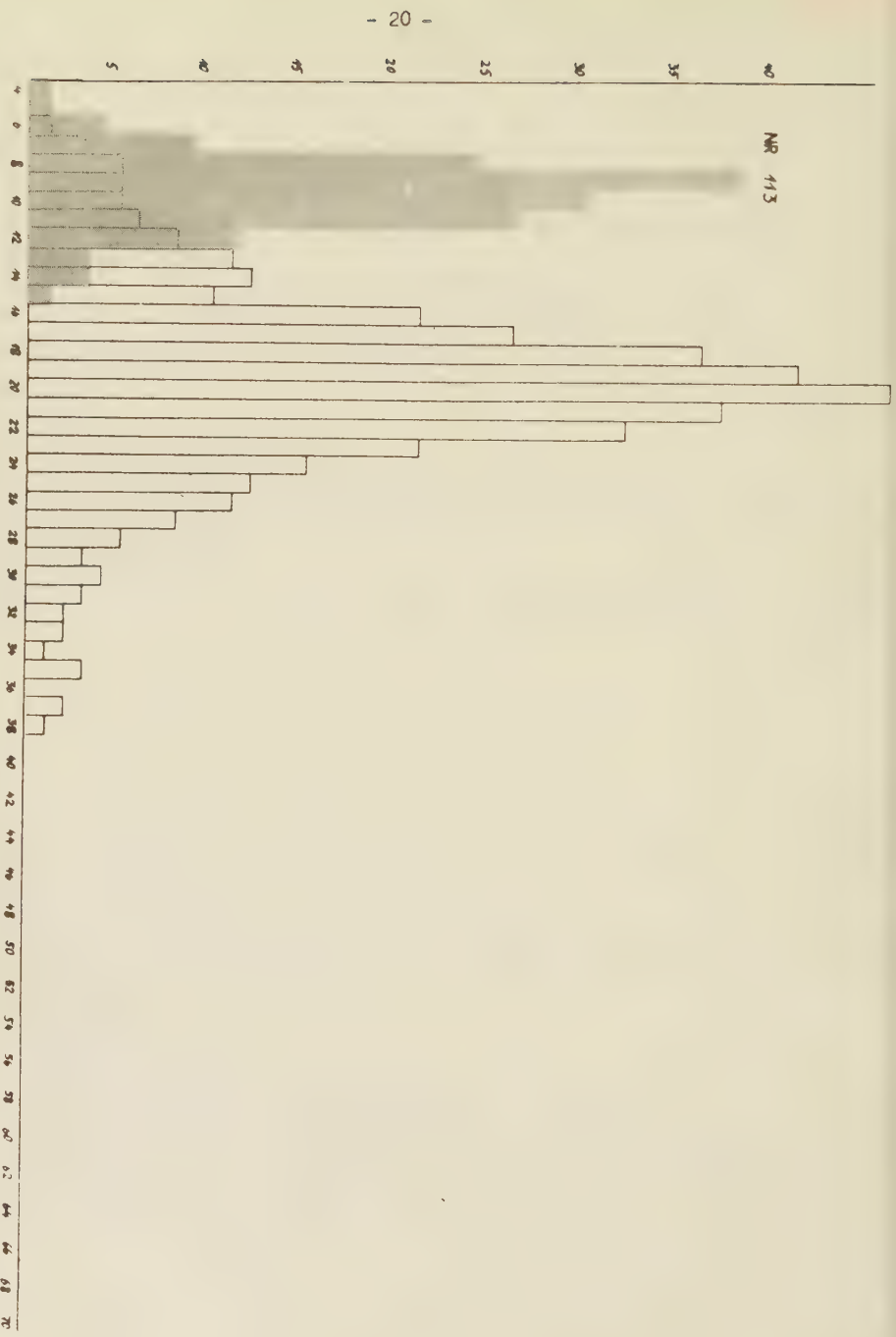
Ratte Nr. 154 Kontrolltier

NR. 156



Ratte Nr. 156 Kontrolltier

Ratte Nr. 113 Versuchstier. Senecio vulgaris; ohne Regeneratknoten.

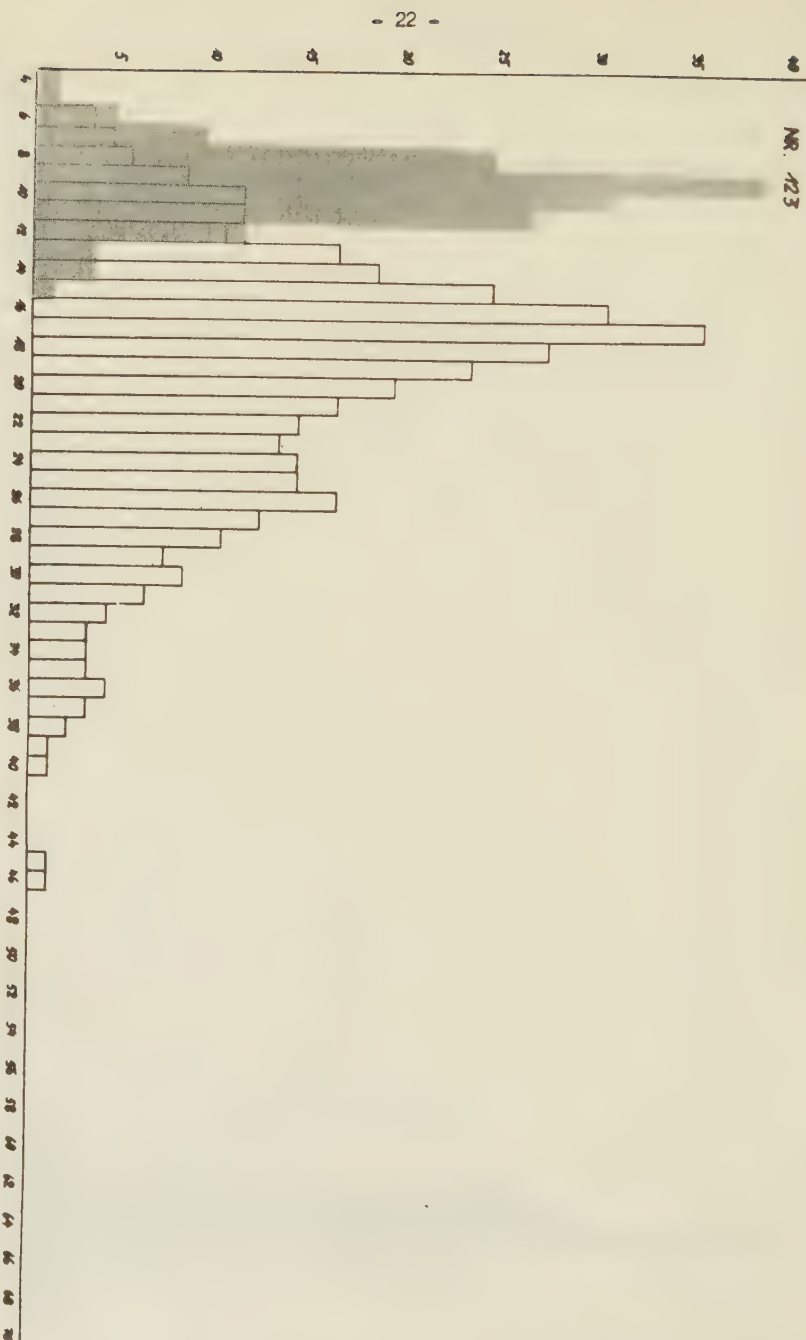


Nr. 120



Ratte Nr. 120 Versuchstier. Senecio vulgaris ohne Regeneratknoten.

Nr. 123

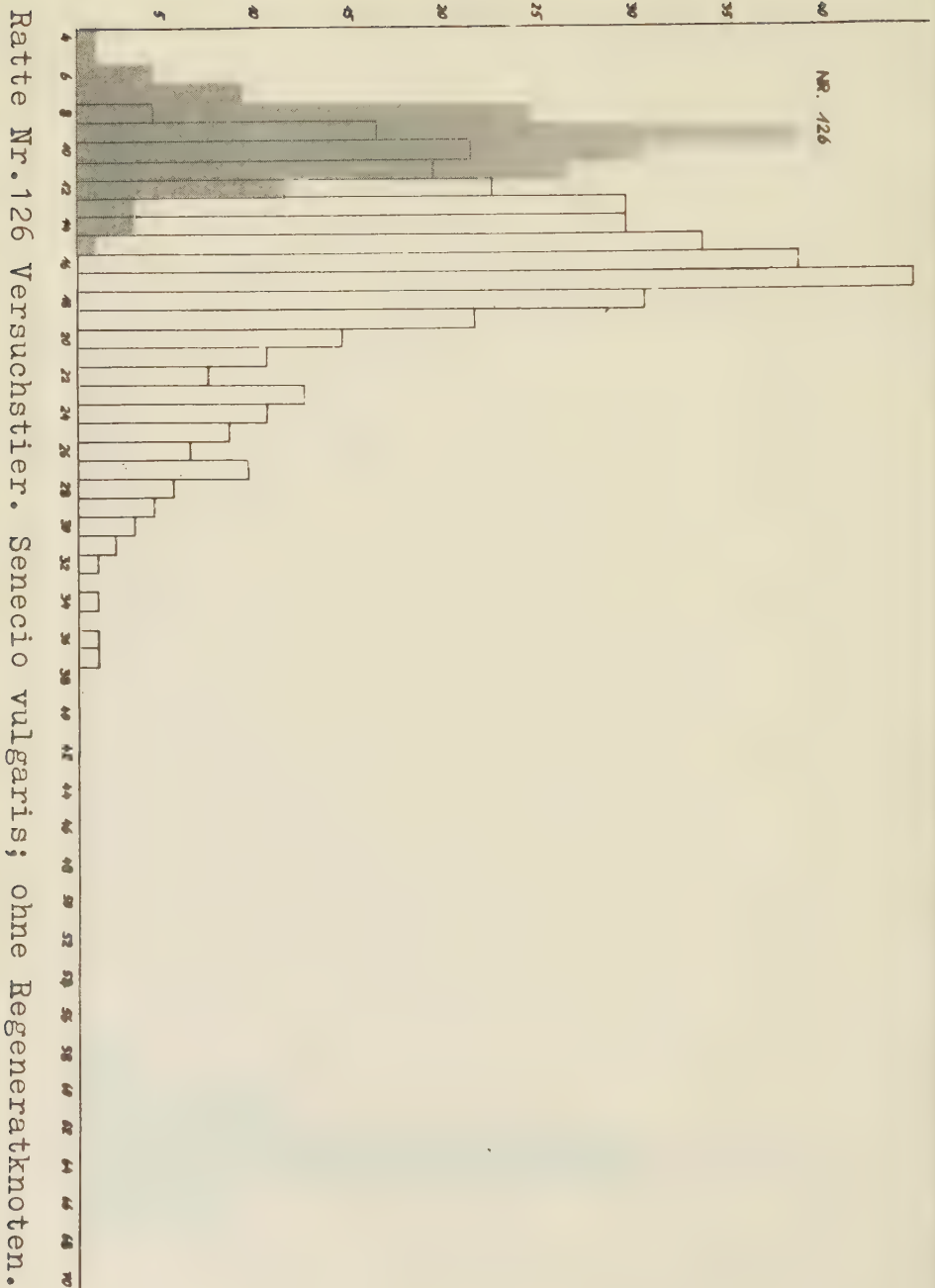


Ratte Nr. 123 Versuchstier. Senecio vulgaris; ohne Regeneratknoten.

NR. 125



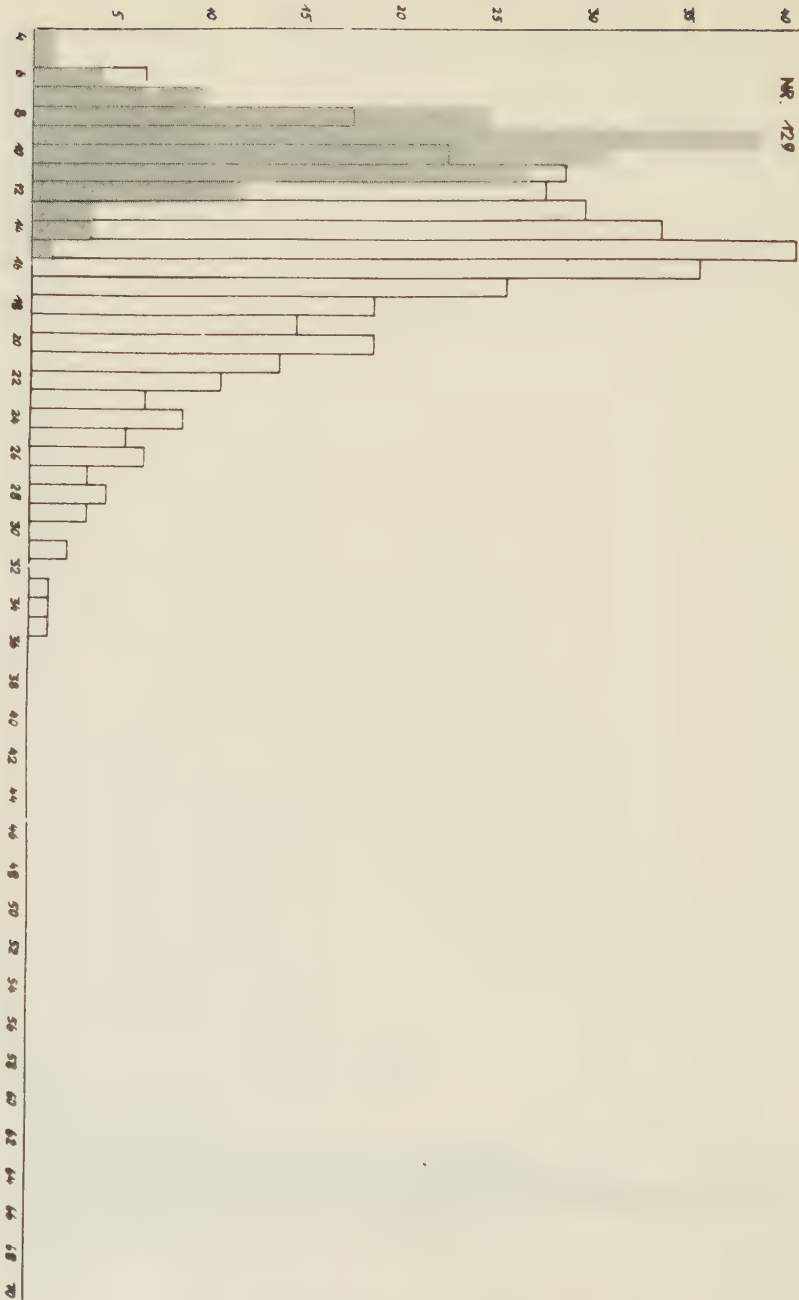
Ratte Nr. 125 Versuchstier. *Senecio vulgaris*; ohne Regeneratknoten.



Nr 128

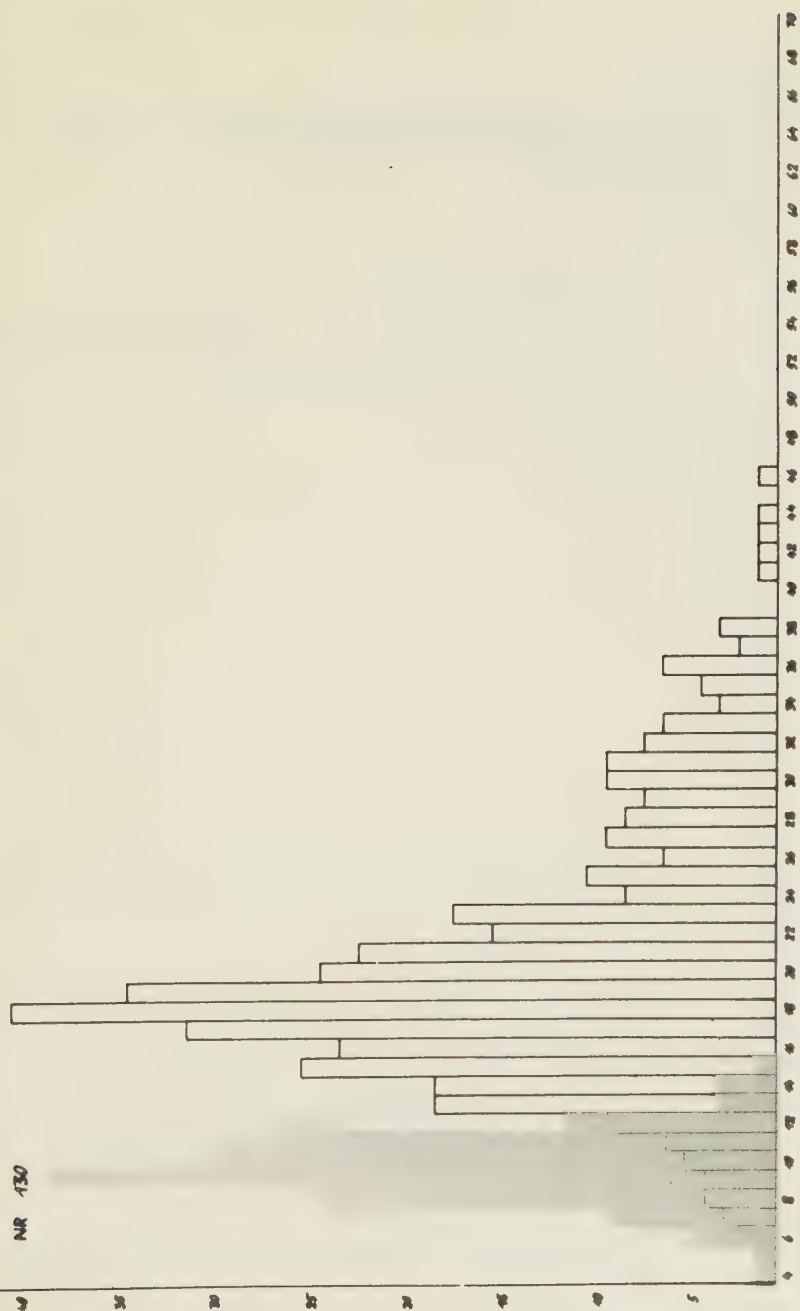


Ratte Nr. 128 Versuchstier. Senecio vulgaris; ohne Regeneratknoten.



Ratte Nr. 129 Versuchstier. Senecio vulgaris; ohne Regeneratknoten.

NR 130



Ratte Nr. 130 Versuchstier. Senecio vulgaris; ohne Regeneratnoten.

Nr. 147

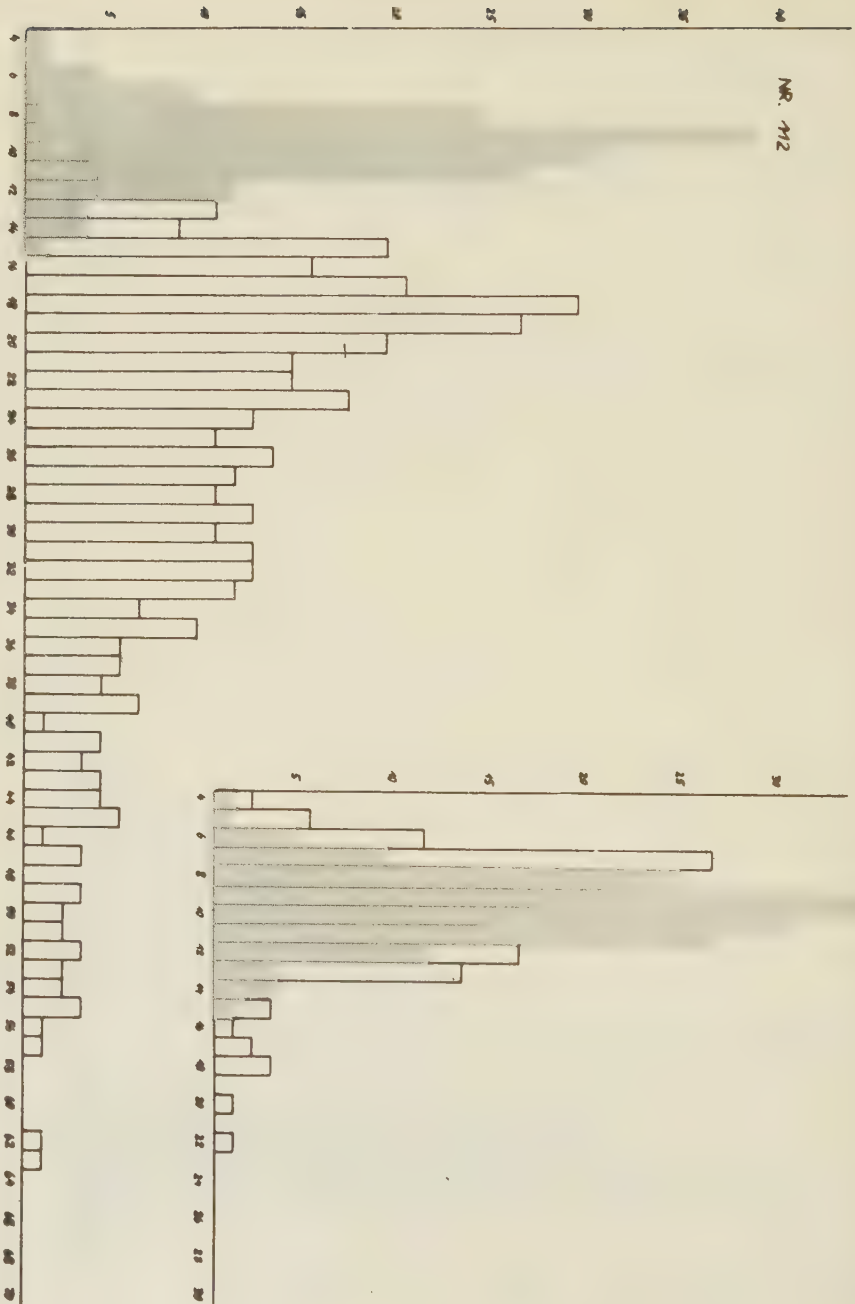


Ratte Nr. 147 Versuchstier. Senecio paludosus; ohne Regeneratknoten.



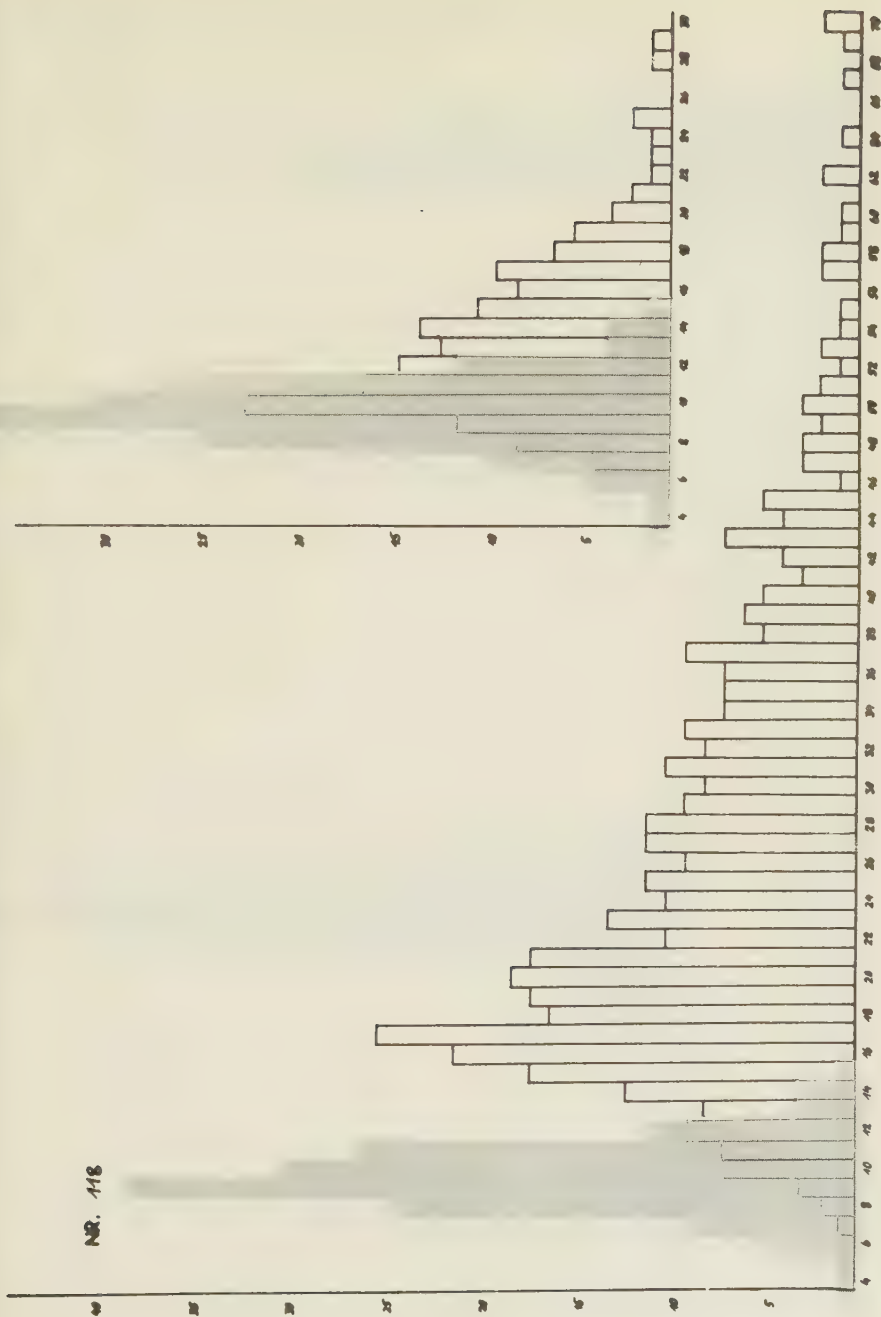
Ratte Nr. 148 Versuchstier. Senecio paludosus; ohne Regeneratknoten.

Nr. 112



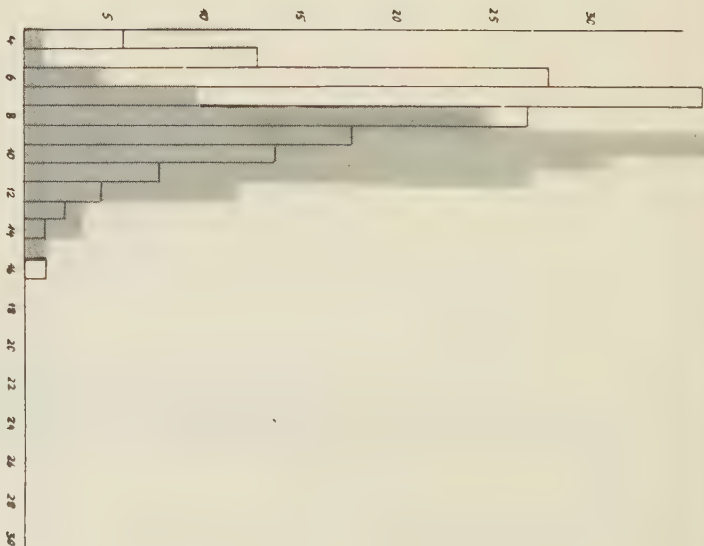
Batte Nr. 112 Versuchstier. Senecio vulgaris; mit Regeneratknoten.

Nr. 118



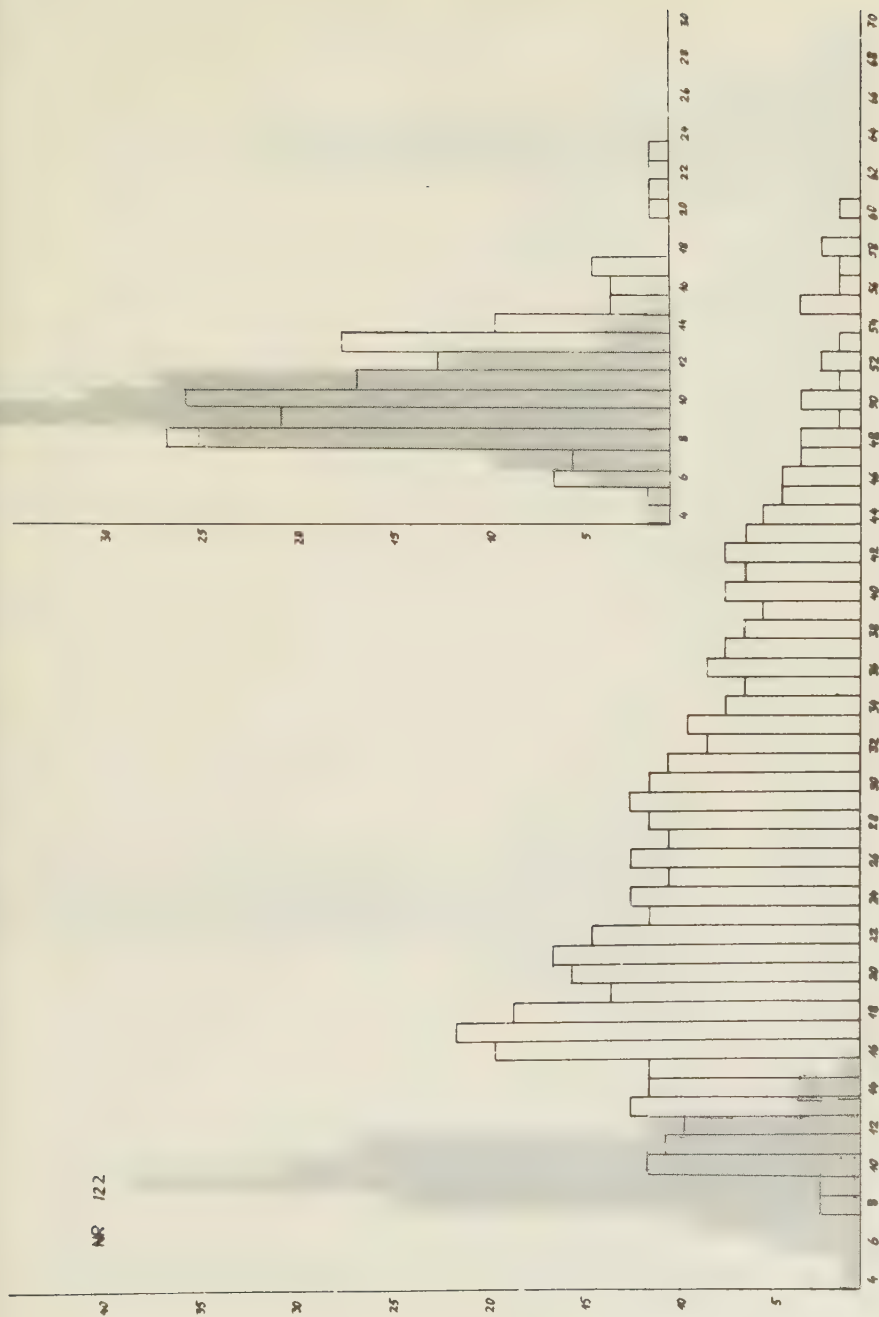
Ratte Nr. 118 Versuchstier. Senecio vulgaris; mit Regeneratknoten.

NR. 119



Ratte Nr. 119 Versuchstier. Senecio vulgaris; mit Regeneratknoten.

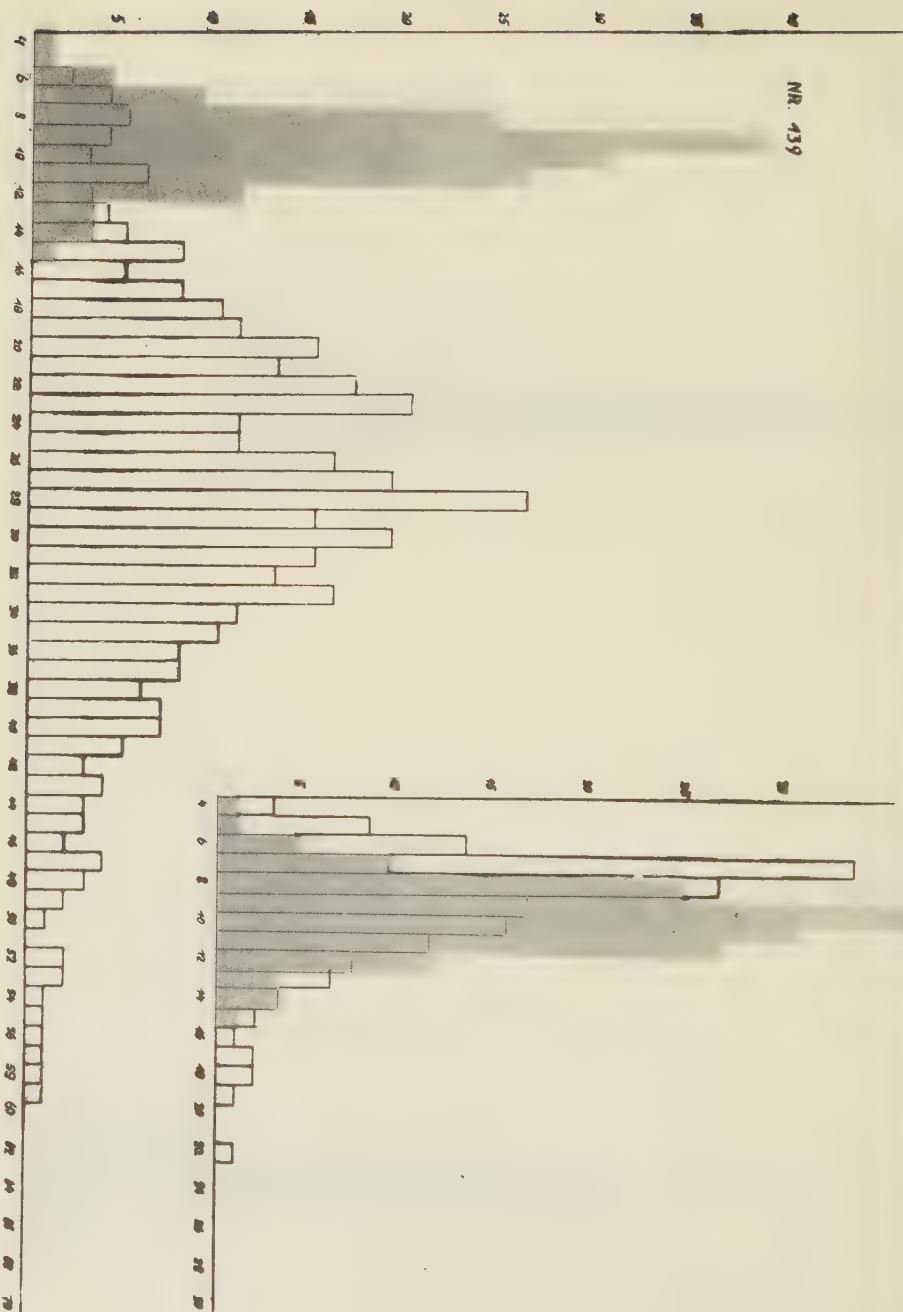
NR 122



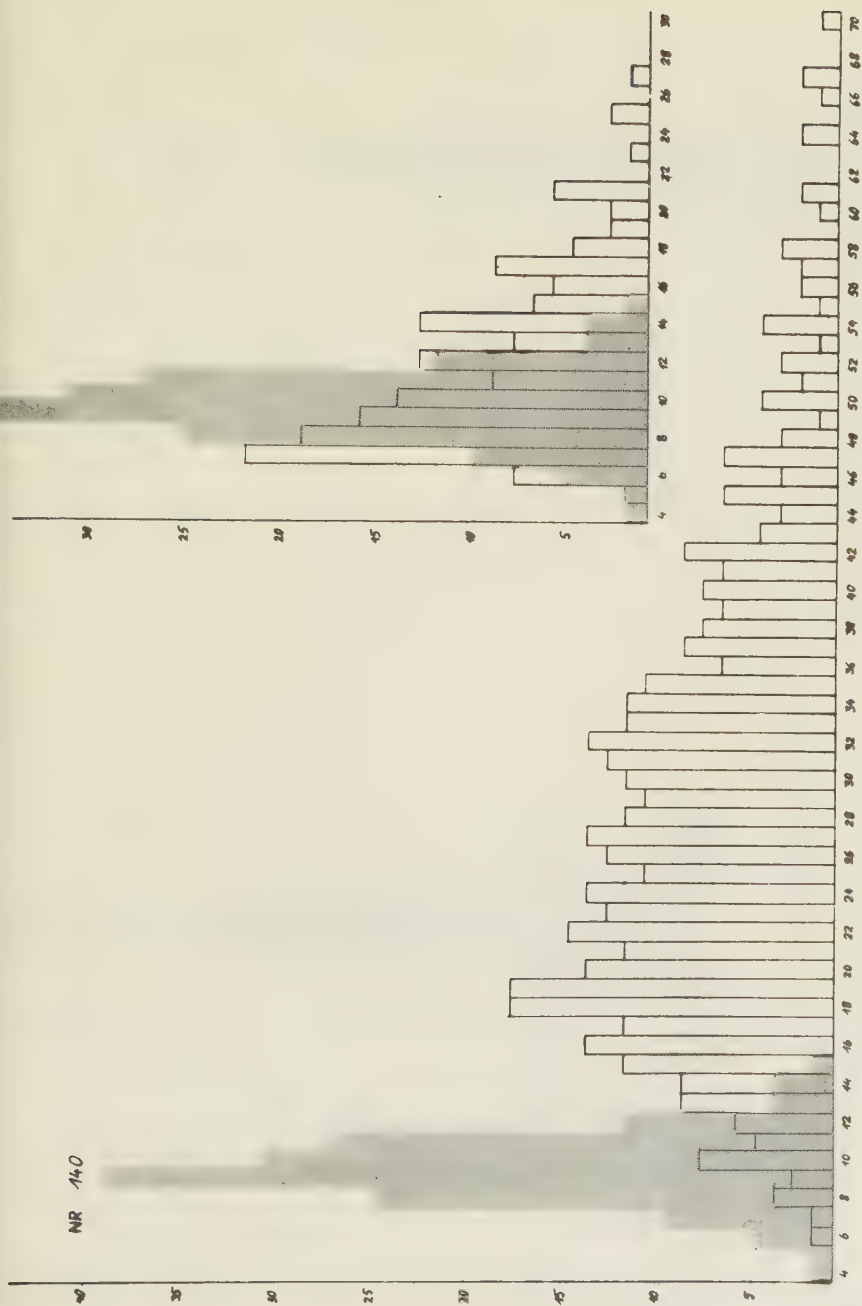
Ratte Nr. 122 Versuchstier. *Senecio vulgaris*; mit Regeneratknoten.

NR. 439

- 34 -

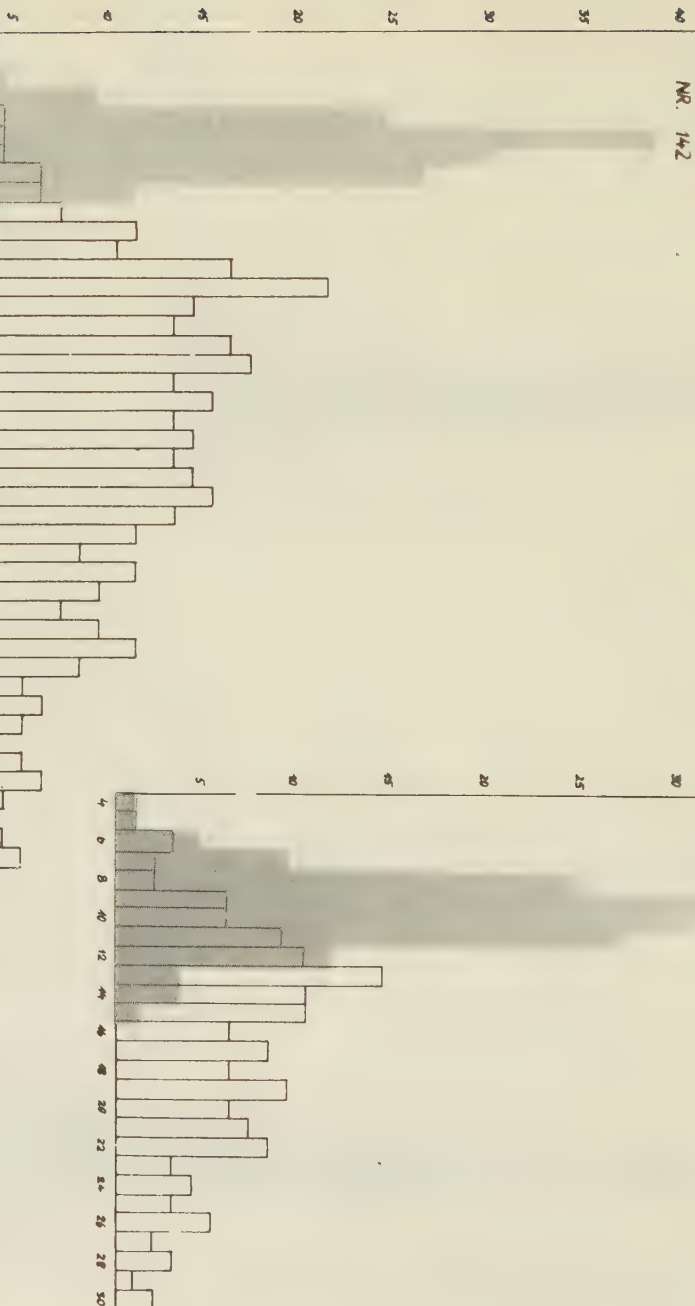


Batte Nr. 139 Versuchstier. Senecio jacobaea; mit Regeneratknoten.



Ratte Nr. 140 Versuchstier. Senecio jacobaea; mit Regeneratknoten.

NR. 142



Ratte Nr.142 Versuchstier. Senecio jacobaea; mit Regeneratknoten.

Nr. 143

30

25

20

15

10

5

0

4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30

30

25 20 15 10 5 0

4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30

Ratte Nr. 143 Versuchstier. Senecio jacobaea; mit Regeneratknoten.

Organuntersuchungen

Im Zusammenhang mit den sehr unterschiedlichen Ergebnissen der Kerngrößenmessungen an Leberzellen, sowie den markanten Befunden bei der Auswertung histologischer Schnittbilder, verdient die Frage nach Veränderungen in anderen Organen besondere Beachtung. Während im Schrifttum ausführliche Befunde über die Leber, insbesondere im Zusammenhang mit den beim Pferde unter den Namen "Schweinsberger Krankheit, Leber-Gehirnerkrankung, Leber-Koller, Leber-Verhärtung" u.a. bekannten Erkrankungen vorliegen, erwähnen nur einige Autoren gelegentlich klinische Symptomenbilder und geben knappe Hinweise auf die in keiner Weise charakteristischen histologischen Veränderungen von Gehirn, Milz und Herz.

Eine Zusammenstellung **klinischer** Symptome bei Erkrankungen, die mit Leber-Verhärtungen und -entartungen beim Pferd einhergehen, gibt **S a s s e n** (34) in seiner Dissertation "Chronische Leberverhärtung". Darüber hinaus berichten eine Reihe von Forschern in bemerkenswerter Übereinstimmung von den klinischen Verlaufsformen. Nach **B r y n e** (3), **K r a g e** (25) und **v. M o c s y** (27) läßt sich zunächst eine gewisse Inappetenz mit langsamer Abmagerung feststellen, wobei das Allgemeinbefinden oft erheblich gestört ist. Allgemeiner Ikterus mit Vergrößerung der Leber und Kolikerscheinungen infolge Magenüberladung sind keine Seltenheit. Akuter verlaufende Formen haben Fieber, erhöhte Pulsfrequenz mit Lokomotionsstörungen in Form schwankenden Ganges und Lahmheit zufolge. Bei subakuten Formen machen sich Störungen im Zentralnervensystem mit Depressions- und Excitationerscheinungen bemerkbar. Leberentartungen wurden dabei in jedem Fall beobachtet.

S t r o h und **Z i e g l e r** (38) beobachteten besonders dummkoller-ähnliche Erscheinungen. Die Pferde schienen im Stehen zu schlafen, senkten den Kopf auf die Krippe, taumelten vorwärts und stießen mit dem Kopf gegen die Wand. Bisweilen sahen sie auch eine unkoordinierte Bewegung. **A d a m** (1), **F r i e d b e r g e r** (12) und **N i k l a s** (30) berichten von häufigem Gähnen, Mattigkeit und m.o.w. starker Injizierung mit z.T. gelbroter Verfärbung der Lidbindehäute. **H u p k a** (21) berichtet vom Tod eines Pferdes mit dummkoller-ähnlichen Erscheinungen nach Vergiftung mit *Senecio vernalis*.

D a v i d s o n (8) beschränkte sich in seinen Ausführungen bei Versuchstieren auf den Hinweis der Gewichtsabnahme und das Auftreten von Ascites. Ge-

legentlich trat Parese der Nachhand auf.

In ähnlicher Weise gestalten sich die pathologisch - anatomischen Veränderungen. Abgesehen von den Befunden an der Leber sind die übrigen Beobachtungen wenig charakteristisch. So berichtet Adam (1) von einem riesigen Magen mit unverdauten Futtermassen bei Pferden. An Hand eines größeren Untersuchungsmaterials stellten Stroh und Ziegler (38) eine Ödematisierung des Dickdarms bei gleichzeitig unverändertem Dünndarm fest. Sehr häufig fand sich auch eine Schwellung und Rötung der Darmlymphknoten. Im Verlaufe ihrer Untersuchungen glaubten sie, zwischen einem Typ a mit mäßiger oder fehlender, und einem Typ b mit ausgeprägter Leber- und Milzschwellung unterscheiden zu müssen. Darnach wäre die Milz beim Typ a unverändert, beim Typ b erheblich vergrößert und von bläulich-roter bis himbeerähnlicher Farbe.

Ein sehr ausführlicher Sektionsbefund beim Pferd liegt von Dobbertstein (9) vor. Die bereits genannten Verhältnisse am Magen-Darmtrakt fanden ihre Bestätigung. Die Darmschleimhaut war graurot verfärbt, wobei die Submukosa etwas verdickt und stärker durchfeuchtet schien. Das Mesocolon zeigte sulzige Durchtränkung mit schwappender Beschaffenheit. Außer einer leichten Kapselspannung fanden sich an der Milz keine Besonderheiten. Auch am Gehirn ergab sich außer einer mäßigen Durchsaftung keine Abweichung von der Norm.

Über pathologisch-anatomische Befunde am Zentralnervensystem berichtet nur Friedberger (12) von einer vermehrten Blutfülle des Gehirns und seiner Häute, und Theiler (39) von einer gelegentlichen Injizierung der Gefäße. Analog gibt Stenius (37) eine gewisse Hyperämie und Ödematisierung an.

Befundberichte einer Seneciovergiftung bei Versuchstieren liegen von Rossenfeld und Beath (32) vor. Die ungewöhnlich starken Veränderungen dürften durch die massierte Dosierung zustande gekommen sein. So erhielten Mäuse 100 - 500 mg/kg Reinalkaloid, bzw. bis 50 % der getrockneten Pflanzen. Entsprechend dem Dosierungsgrad zeigten sich Veränderungen in Form ausgedehnter Gefäßschäden und Stauungen in allen Organen, zahlreichen Blutungen am Epicard, Myokard, Nieren, Peritoneum, Netz, Darm und Leber.

Während sich im Verlauf der zahlreichen Untersuchungen von der Leber ein mannigfaches Bild entwickelte, finden sich Hinweise auf Veränderungen in anderen Organen nur in sehr spärlicher Form. Bei der Vielseitigkeit klinischer und pathologischer Befunde finden sich histo - patholo -

g i s c h e Befunde nur vereinzelt. Ob derartige Untersuchungen überhaupt unterblieben oder mangels hinreichender Ergebnisse unerwähnt blieben, ist aus den Angaben nicht zu entnehmen.

Die ersten einschlägigen Hinweise finden sich in den Arbeiten von S t r o h und Z i e g l e r (38) "Über die Schweinsberger Krankheit in Südbayern". Entsprechend ihrer makroskopischen Einteilung bezüglich kaum veränderter Milz (Typ a) und stark vergrößerter Milz (Typ b) erfolgte auch die mikroskopische Bearbeitung. Bei Typ a zeigt sich ein mehr oder weniger verringerter Pigmentgehalt sowie Unterschiede in Art und Menge der Eisenablagerung in den einzelnen Zellen. Die feinkörnige staubartige Ablagerung von Eisen ergab das Bild einer diffusen Durchtränkung der Pulpazellen. Dabei konnte die Frage, ob der Eisengehalt und die Art der Ablagerung im Zusammenhang mit der Schwere der Krankheit steht, durchaus nicht geklärt werden. Bei Typ b fiel ein völliger Pigmentschwund auf. Zudem verringerte sich die Zahl der Milzfollikel erheblich. Auch die Querschnitte der Hülsm- und Pulpaarterien und der Milzsinoide traten zurück.

D o b b e r s t e i n (9) dagegen konnte keine wesentlichen Abweichungen in der Milz feststellen. Der Hämosideringehalt war in keiner Weise verringert. Angeregt durch die Verschiedenartigkeit cerebraler Störungen beim Pferd erschien D. die Untersuchung des Gehirns erfolgversprechend. Die Veränderungen werden etwa folgend angegeben:

Entzündliche Veränderungen fehlen völlig. Die Pia mater und die in der Gehirnsubstanz verlaufenden Gefäße zeigen keine Abweichungen. Auffallender sind die Veränderungen an den Ganglien- und Gliazellen. Die Ganglienzellen der Großhirnrinde färben sich bei Anwendung der Thioninfärbung im ganzen homogen. Zellfortsätze treten infolge stärkerer Färbbarkeit basophiler Substanzen deutlich hervor. Schwindet die Kernmembran, färbt sich der Kern ebenfalls dunkel. Die Unregelmäßigkeit des fortschreitenden Prozesses bewirkt das gleichzeitige Auftreten normaler Ganglienzellen neben solche mit erheblichen Veränderungen. Letztere sind von einer Anzahl Gliazellen umgeben. Gliazellen vermögen schließlich in Ganglienzellen einzudringen, was ein allmähliches Verschwinden der letzteren zur Folge hat. Eine derartige Neuronophagie findet man diffus in der ganzen Großhirnrinde. Ungewöhnlich stark erscheint die Vermehrung der Gliazellen in der Umgebung der Ganglienzellen, die nahezu das Drei- bis Vierfache der normalen Menge erreicht. Dabei sind überraschenderweise keine Teilungsfiguren zu finden. Gelegentlich treten Gliazellen mit besonders großem, aber blaß gefärbtem Kern auf und die Zellen selbst erschei-

nen um das Vier- bis Sechsfache vergrößert. Besonderheiten ließen sich nicht nachweisen. Soweit diese vorkommen, stellen sie kein Charakteristikum dar.

Weniger ausführlich sind die Beobachtungen von v. M o c s y (27). Nach ihm sind die Veränderungen in den verschiedenen Teilen des ZNS. nur geringgradig in Form gequollener oder etwas geschrumpfter Zellkerne. Die Plasmastruktur erscheint verwaschen mit beginnender Vakuolenbildung und geringgradiger Gliawucherung. Bemerkenswert ist der Hinweis, daß jegliche Entzündungssymptome fehlen. Ursächlich sollen für diese Erscheinungen Abbauprodukte oder zugrundegehende Leberzellen in Frage kommen.

Entsprechend dem ungewöhnlich stark veränderten makroskopischen Erscheinungsbild gestalten sich auch die histologischen Befunde. Koagulationsnekrosen und Myocardnekrosen ergaben sich in allen Fällen, wenn auch von unterschiedlicher Ausdehnung. Die Gehirnkapillaren waren gewöhnlich gestaut und gelegentlich zeigten sich Blutextravasate. In der Milz fiel lediglich eine starke Infiltration, vorwiegend von Rundzellen auf. An Herz und Milz beobachtete man eine gewisse hyaline Degeneration mit örtlicher Bindegewebszubildung. Milznekrosen traten nur vereinzelt auf.

Ergebnisse der eigenen Versuchsreihe

Die Anfertigung histologischer Schnitte erstreckte sich in der Hauptsache auf jene Tiere, die starke, vor allem knotig-hyperplastische Veränderungen aufwiesen. Von Herz und Milz wurden Paraffinschnitte von 5μ Dicke hergestellt, mit Hämalaun-Eosin, sowie nach der Weigert-Elastica-v-Gieson-Methode gefärbt. Die Schnittdicke für Gehirne betrug 20μ . Die Färbung erfolgte nach der Nissl-Methode.

In Analogie zu den verhältnismäßig spärlichen Mitteilungen in der Literatur konnten die Erwartungen innerhalb der eigenen Versuchsreihe bei relativ niederer Beifütterung von Seneciopflanzen nicht sehr hoch gestellt werden. Aus naheliegenden Gründen wurden daher Organe gerade jener Tiere ausgewählt, deren Lebern hochgradig verändert waren und folglich eine gewisse Generalisation des Vergiftungsprozesses vermuten ließen. Um so mehr überraschte es, daß in dieser Hinsicht jegliche Veränderungen an Gehirn, Milz und Herz, selbst andeutungsweise fehlten. Eine gewisse Blutfülle der Milz konnte infolge der Tötungsart mit Äther nicht als Spezificum anerkannt wer-

den. Ein einziger, in einem Gehirn beobachteter Nekroseherd mußte infolge des bakteriologischen Untersuchungsbefundes einer Salmonelleninfektion für die Beurteilung ausfallen.

Die im Schrifttum genannten, auch unspezifischen Erscheinungsbilder konnten bei unseren Versuchstieren in keinem Fall bestätigt werden.

D i s k u s s i o n

Aus der zahlenmäßigen Größenbestimmung von Leberzellkernen weißer Ratten, die einer über 9 Monate sich erstreckenden Seneciovergiftung unterlagen, läßt sich eine Vergrößerung aller Zellkerne erkennen. Damit lassen sich die zunächst subjektiven Angaben über eine Leberzellblähung, R o s e n - f e l d und B e a t h (32) über sehr unterschiedliche Zellkernumfänge, C o o k, D u f f y und S c h o e n t a l (7), über eine Hypertrophie der Zellen und ihrer Kerne, H a r r i s, H e n d e r s o n und C h e n (13) über starke Kerngrößenvariationen sowie Auftreten von Riesenzellen, S c h a m p e r (35) u.a. bestätigen.

Der größte Variationsbereich ist in Tabelle Nr. 140 mit 64 verschiedenen Flächeneinheiten angegeben. Er stellt damit das mehr als 6-fache des Schwankungsbereiches normaler Leberzellkerne dar. Auffallend ist, daß diese große Breite in all den Präparaten erreicht wird, die zugleich Regeneratknotten aufweisen, Tabellen Nr. 112, 118, 119, 122, 139, 140, 142, 143. In der Verteilung der Häufigkeit der Zellkerngrößen sind keine nennenswerten Unterschiede zu verzeichnen. Die einzige vorkommende Häufigkeitsspitze liegt zwischen der Größeneinheit $E = 16$ und $E = 20$ und nur in Tabelle Nr. 139 liegt sie bei $E = 28$.

Die zugehörigen Regeneratknotten weisen keine Besonderheit auf. Ihr Variationsbereich erstreckt sich von $E = 4$ bis $E = 30$. Die Hauptmasse der Kerne bewegt sich aber in einem um ein Drittel kleineren Variationsbereich, sofern man die Streuwerte in Abzug bringt. Das hier vorkommende gleichfalls einzige Maximum liegt bei Größeneinheit $E = 7$, bzw. $E = 8$. Eine Ausnahme bildet der Regeneratknotten der Tabelle Nr. 142 mit dem Maximum bei $E = 13$.

Diese Ergebnisse lassen einen gewissen Vergleich mit den Tabellen der Normaltiere zu. Auch hier liegt die Hauptmasse der Kerne bei $E = 7$, bzw. $E = 8$. In diesem Fall fehlen die Streuwerte, so daß sich ein Variationsbereich von $E = 5$ bis $E = 15$ ergibt. Durch das Auftreten von Streuwerten läßt sich im vorliegenden Fall normales Lebergewebe deutlich von knotig hyperplastischem Gewebe unterscheiden.

Etwas anders liegen die Verhältnisse bei jenen Präparaten, die keine knotigen Regenerationen aufzuweisen haben. Hier ist der Variationsbereich we-

sentlich enger. Bei einem Teil erstreckt er sich überhaupt nur auf ca. 30 Flächeneinheiten, Tabellen Nr. 113, 126, 129, 148, also dem 3-fachen von normalem Lebergewebe. Bei den übrigen Präparaten, Tabellen Nr. 120, 123, 125, 128, 130, 147, nimmt der Variationsbereich eine Breite von etwa 50 Flächeneinheiten ein, erreicht aber in keinem Fall jene Breite des knotig hyperplastischen Lebergewebes. Allen Tabellen gemeinsam ist der eine Häufigkeitsgipfel einer gewissen Größeneinheit einschließlich der Regenerationen.

Es erhebt sich nun die Frage, wie sich diese Ergebnisse mit dem Gesetz der Kernvolumensverdoppelung von J a c o b j (23) in Einklang bringen lassen. Die Richtigkeit des Gesetzes steht außer Zweifel und ist im Laufe der letzten Jahrzehnte in ausreichendem Maße bestätigt worden, B ö h m (2), C l a - r a (6), H e r t w i g (17), F i s c h e r (10), L e i s t n e r (26), F r e e r k s e n (11), V o s s (41) u.a.

Es erübrigte sich infolgedessen eine erneute Nachprüfung. Die Ermittlung der Kerngrößen mit Hilfe des Mikroplanimeters, C a s p e r s s o n, F r e d - r i k s o n und T h o r s s o n (5) bringt lediglich eine Erleichterung und Verbesserung des Meßverfahrens mit sich, nicht aber eine Änderung der tatsächlichen Größenwerte, wie sich aus dem Vergleich der Meßwerte anderer Arbeiten an Hand des gesuchten Umrechnungsfaktors beweisen läßt.

Der Verlust der Gesetzmäßigkeit der Volumensverdoppelung erklärt sich ganz von selbst aus der Art des Versuches. Im Gegensatz zu den zahlreichen Untersuchungen an normalem gesundem Gewebe sind die Mitteilungen über Kerngrößenveränderungen an krankhaft verändertem Gewebe sehr spärlich. Die von S c h r ö t e r (36) durchgeführten Untersuchungen unter verschiedenen physiologischen Bedingungen bei einer Versuchsdauer von 6 Tagen konnten natürlich keine erheblichen Veränderungen mit sich bringen. Die Verschiebung der Maxima nach der einen oder anderen Seite ergab zwangsläufig eine gewisse Differenz in der Gesetzmäßigkeit.

Von einer eigentlichen Vergiftung berichteten W e r m e l und I g n a - t i e w a (42). Aus den Versuchen erkennt man einen hochakuten Prozeß infolge Verabreichung einer einmaligen hochtoxischen Dosis eines Giftes. Es ist ohne weiteres verständlich, daß der momentane Schock ein Anwachsen aller Zellen um 30 - 50 % infolge Versagens der entgiftenden Wirkung der Leber mit sich bringt. Andererseits konnte aus dem Anwachsen aller Zellen das Bestehen einer Gesetzmäßigkeit durchaus erwartet werden.

Ganz ähnlich liegen die Verhältnisse bei der Alloxanvergiftung, H i e r o -

n y m i (18). Auch hier bleibt die Gesetzmäßigkeit, wenn auch mit kleinen Differenzen, erhalten. Die Erklärung ergibt sich aus der Überlegung, daß die Untersuchung der Zellkerne vier Wochen nach Verabreichung einer einmaligen subtoxischen Dosis erfolgte. Nach einer solchen Zeitspanne dürften wieder annähernd normale Verhältnisse hergestellt sein.

So lassen sich die Ergebnisse der eigenen Versuchsreihe mit anderen Arbeiten nicht vergleichen, da karyometrische Untersuchungen an chronisch veränderten Gewebe bisher nicht durchgeführt wurden. Die längste angegebene Versuchsdauer betrug zwar vier Wochen, doch wurde das Gift in jedem Falle nur einmalig verabreicht.

Aus diesem Grunde nimmt es nicht wunder, wenn sich das Gesetz von der Volumensverdoppelung auf die Leberzellkerne nach einem über 9 Monate sich erstreckenden Senecio-Fütterungsversuch an weißen Ratten nicht mehr anwenden läßt. Die tägliche Verabreichung kleiner Dosen, beginnend mit 1/2 % des Grundfutters und allmählicher Steigerung bis 10 % bei Versuchsende, rief zwar keine akute Vergiftung, wohl aber den gewünschten Umbau des Lebergewebes hervor. So darf angenommen werden, daß die einzelnen Leberkerne einem ungeordneten pathologischen Wachstum folgten und in der bereits dargestellten Weise entarten konnten.

Sicher hat die langdauernde Verabreichung und die allmähliche Steigerung der täglichen Senecioidosis eine gewisse Gewöhnung mit sich gebracht. Wenn sich dabei immer nur in der Leber und in keinem der übrigen untersuchten Organe Gewebsveränderungen nachweisen lassen, so spricht dies für eine auf die Leber allein gerichtete Toxizität der Senecioalkaloide. Mit anderen Worten heißt dies aber, daß die Leber im Rahmen ihrer Entgiftungsarbeit bei massiver, dauernder Senecioverabreichung in einer Weise überbeansprucht wird, die schließlich eine wahrscheinlich irreparable Veränderung sowohl des Zell- als auch des ganzen Organgefüges auszulösen imstande ist.

Aus der funktionellen Anpassung, welche offenbar von spezifischen Strukturveränderungen begleitet wird, hat sich eine Zellentartung heraus entwickelt, die bereits den sogenannten Metaplasien in den Erststadien eines malignen, neoplastischen Wachstums an die Seite zu stellen ist. Wie zwanglos sich all diese Vorgänge - Entartung auf der einen und Regenerationsversuch auf der anderen Seite - in ein statistisch-mathematisches Gefüge einordnen, haben unsere karyometrischen Untersuchungen gezeigt.

Über die subjektiven histologischen Eindrücke hinaus ist also die objektive

Messung von Gewebselementen zur näheren Bezeichnung und Klassifikation des Gewebszustandes gut geeignet. Damit ist aber gleichzeitig eine grundsätzliche Frage angeschnitten, nämlich die, ob eine solche statistische Objektivierung von geweblichen Zustandsbildern eine schärfere Begrenzung der histologischen Diagnose in jedem Falle, insbesondere aber im Rahmen der Geschwulstpathologie, zuläßt. Wenn auch aus den vorliegenden bescheidenen Deutungsversuchen am Beispiel der chronischen Senecio-Vergiftung keine allgemein gültigen Analogieschlüsse gezogen werden dürfen, so kann doch die Empfehlung, die Karyometrie in größerem Umfang besonders in die Geschwulstpathologie einzubauen, kaum als unbescheiden aufgefaßt werden.

Z u s a m m e n f a s s u n g

1. Es wurden die Kerngrößenverhältnisse von Leberzellkernen weißer Ratten untersucht, die nach 9-monatiger Verfütterung von Kreuzkraut aus der Gattung *Senecio* erhebliche Form- und Größenunterschiede aufwiesen.
2. Zur zahlenmäßigen Größenbestimmung der Kernfläche von 9300 Kernen diente das noch wenig bekannte mikroplanimetrische Verfahren nach C a s - p e r s s o n, F r e d r i k s o n und T h o r s s o n (5), das auch unregelmäßige Kernformen exakt zu bestimmen vermag.
3. An Hand der graphischen Darstellung läßt sich eine Vergrößerung bis zum 6-fachen Betrag normaler Leberzellkerne feststellen.
4. Das von J a c o b j (23) aufgestellte Gesetz vom rhythmischen Wachstum der Zellen durch Verdoppelung ihres Volumens kann auf die chronisch-toxisch veränderten Leberzellkerne nicht mehr angewendet werden. Es liegt vielmehr ein Wachstum ohne jede Gesetzmäßigkeit, wohl aber mit eindeutigen Maxima in bestimmten Kerngrößenordnungen vor.
5. Die in einigen Präparaten auftretenden knotigen Regenerationen lassen hinsichtlich ihrer Größenverhältnisse eine gewisse Ähnlichkeit mit normalem Lebergewebe erkennen.
6. Die Gewebsschädigungen der *Senecio*alkaloide beschränken sich im Rattenexperiment offenbar allein auf die Leber, nachdem in den übrigen histologisch untersuchten Organen keinerlei Veränderungen zu finden sind.

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

1. Adam, Th.: Bericht über die 16. Gen.-vers. d. tierärztl. Vereins in Schwaben u. Neuburg (27.5.1861). Wschr. Tierheilk. 1861. 341.
2. Böhm, J.: Variationsstatistische Untersuchungen über die Kerngrößen in mehrreihigen Epithelien. Z. mikrosk.-anat. Forsch. 36, 464 (1934).
3. Bryne, E.: Vergiftungen bei Pferden durch schwedischen Klee (*Trifolium hybridum*). Svensk. Vet.-tidskr. 38, 226 (1933). Ref.: Iber.Vet.med. 54, 319 (1934).
4. Bucher, O. und Horisberger, B.: Karyometrische Untersuchungen an Gewebekulturen. I. Zur Methodik der Kerngrößenmessung in Deckglaskulturen. Acta anat. 9, 258 (1950).
5. Caspersson, T., Fredrikson, T., Thomsson, K.G.: Heriditas (Lund) 39, 201 (1953). Ref.: Frankf. Z.f.Pathol. 65, 220 (1954).
6. Clara, M.: Untersuchungen an der menschlichen Leber. II. Teil über die Kerngrößen in den Leberzellen. Z. mikrosk.-anat. Forsch. 22, 145 (1930).
7. Cook, J.W., Duffy, E. und Schoental, R.: Primary liver tumours in rats following feeding with alkaloids of *S. jacobaea*. The British J. of Cancer 4, 405 (1950).
8. Davidson, J.: The action of Retrorsine on rat's liver. J. of Path. and Bact. 40, 285 (1935).
9. Dobberstein, J.: Über einen Fall von Leberkoller des Pferdes und die dabei gefundenen Gehirnveränderungen. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 34, 501 (1926).
10. Fischer, J.: Über den Wachstumsrhythmus des Follikelepithels der Läuse und Federlinge und seine Beziehung zum Arbeitsrhythmus der Zelle und zur Amitose. Z. Zellforsch. 23, 219 (1936).

11. Freerksen, E.: Ein neuer Beweis für das rhythmische Wachstum der Kerne durch vergleichende volumetrische Untersuchungen an den Zellkernen von Meerschweinchen und Kaninchen. Z. Zellforsch. 18, 362 (1933).
12. Friedberger, F.: Ein Beitrag zur Leberverhärtung der Pferde. Iber. d.K. Zentralarzneischule in München 1880, 88.
13. Harris, P.N., Henderson, F.G. und Chen, K.K.: Hepatic Cirrhosis induced in sheep by Senecio Longilobus. A.M.A. Archives of Pathology 64, 297 (1957).
14. Harris, P.N., Rose, C.L. und Chen, K.K.: Hepatotoxic and Pharmacological Properties of Heliotrine. A.M.A. Archives of Pathology 64, 152 (1957).
15. Heidenhain, M.: Vorträge und Aufsätze über Entwicklungsmechanik der Organismen. Arch. mikrosk. Anat. 32, 73 (1923b).
Ref.: Z.f. mikrosk.-anat.Forsch. 38, 161 (1935).
16. Hennig, A.: Das Problem der Kernmessung. Eine Zusammenfassung und Erweiterung der mikroskopischen Meßtechnik. "Mikroskopie" Zentralbl.f.mikrosk. Forsch. u. Methodik, 12, 174 (1957).
17. Hertwig, G.: Vergleich der Kerngrößen von somatischen und generativen Zellen bei Maus und Ratte. Anat. Anz. 72, Erg.-H. (1931).
18. Hieronymi, G.: Untersuchungen über die Kerngrößen von Leberzellen unter normalen und krankhaften Bedingungen an der weißen Maus. Frankf. Z. f. Pathol. 61, 443 (1950).
19. Hintsche, E.: Statistische Probleme aus der Kerngrößenmessung. Experientia 1, 103 (1945).
20. Hjärre, A. und Carlström, B.: Über Lebercirrhose beim Pferde nach Fütterung mit schwedischem Klee. Skand. Vet. Tidskr. 23, 12 (1933). Ref.: Iber.Vet.med. 54, 559 (1934).

21. Hupka, E.: Ist die Verfütterung von Senecio (Kreuzkraut) als Ursache der Leberverhärtung des Pferdes anzusehen?
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 62, 1 (1955).
22. Jacobj, W.: Die Zellkerngröße beim Menschen. Ein Beitrag zur quantitativen Cytologie.
Z.mikrosk.-anat.Forsch. 38, 161 (1935).
23. Jacobj, W.: Über das rhythmische Wachstum der Zellen durch Verdoppelung ihres Volumens. Roux'Arch. Entw. mechan. 106, 124 (1925).
24. Körner, F.: Variationsstatistische Untersuchungen über die Größe der Kerne und der Kernkörperchen menschlicher Nervenzellen.
Z.f.mikrosk.-anat. Forschung 42, 81 (1937).
25. Krage, P.: Zur Ätiologie der enzootischen Lebergehirnerkrankung bei Pferden in Ostpreußen. Berl.u. Münch. Tierärztl. Wschr. 19/20, 156 (1924).
26. Leistner, H.: Untersuchungen über die Kerngrößen in den Leberzellen des Pferdes. Ein Beleg zum rhythmischen Wachstum der Zellkerne.
Z. Zellforsch. 25, 34 (1936).
27. Mocsy, J.v.: Gehirnsymptome der Leberdystrophie beim Pferde. Allatorv.lapok. 65, 127 (1942).
Ref.: Iber. Vet.med. 70, 541 (1943).
28. Müller, H.G.: Die Entwicklung der Kerngrößenverhältnisse in der Leber der weißen Maus.
Z.f.mikrosk.-anat.Forsch. 41, 296 (1937).
29. Münzer, F.Th.: Experimentelle Studien über die Zweikernigkeit der Leberzellen. Arch.f.mikrosk.Anat.u.Entw. mechanik 104, 138 (1925).
30. Niklas, G.: Über die Leberverhärtung der Pferde. Central-Arch. f.d. ges. Vet.-med. 2, 490 (1846).

31. Pfuhl, W.: Untersuchungen über zweikernige Zellen.
I. Mitteilung. Die Berechnung der zweikernigen Zellen nach der Auszählung im mikroskopischen Schnitt. Z.f.mikrosk.-anat. Forsch. 22, 557 (1930).
32. Rosenfeld, I. und Beath, O.A.: Tissue changes induced by Senecio Riddellii. Amer.J.clin.Path. 15, 407 (1945).
33. Sandritter, W. und Hübotter, F.: Über die Bedeutung des Nucleus in der Nebennierenrinde. Frankf.Z.f. Pathol. 65, 219 (1954).
34. Sassen, P.: Chronische Leberverhärtung.
Vet. Diss. Hannover 1949.
35. Schamper, A.: Die chronische Seneciovergiftung im Rattenexperiment (Senecio vulgaris, S. jacobaea, S. paludosus). Ein Beitrag zur Histiogenese der fütterungsbedingten Lebercirrhosen und Lebergeschwülste beim Tier.
Vet. Diss. München 1958.
36. Schröter, G.: Variationsstatistische Untersuchungen über die Kerngrößen in den Leberzellen der weißen Maus bei verschiedener Fütterung.
Z.f.Zellforsch. 26, 481 (1937).
37. Stenius, P.I.: Die Leber-Gehirnkrankheit des Pferdes.
Finsk. Vet. tidskr. 46, 133 (1940). Ref.: "Der prakt. Tierarzt" 8, 153 (1953).
38. Stroh, G. und Ziegler, M.: Die Schweinsberger Krankheit in Südbayern (mit besonderer Berücksichtigung ihrer Histologie). Z. Infektionskrankh.Haust. 27, 47 (1925).
39. Theiler, A.: Dunsiekte in South African horses (enzootic liver cirrhosis). Union of South Africa, 7th and 8th Reports of the Director of Veterinary Research (1920), 105.

40. Voss, H.: Lokalisiertes Kernwachstum in der Leber von Salamanderlarven nebst Bemerkungen über eine neue Methode der Kernmessung.
Anat. Anz. 82, 230 (1936).
41. Voss, H.: Die Kerngrößenverhältnisse in der Leber der weißen Maus.
Z. f. Zellforsch. 7, 187 (1928).
42. Wermel, E.M. und Ignatiowa, Z.P.: Studien über Zellengröße und Zellwachstum. III, Mitteilung. Über die Veränderungen der Kerngröße bei Vergiftungen.
Z. f. Zellforsch. 17, 476 (1933).

Zum Schlusse meiner Arbeit möchte ich Herrn
Professor Dr. H. S e d l m e i e r für die
freundliche Überlassung des Themas meinen ver-
bindlichsten Dank aussprechen.

Ein Wort aufrichtigen Dankes gilt auch Herrn
Privatdozenten Dr. E. D a h m e für seine wert-
vollen Anregungen.

Lebenslauf

Am 11. Januar 1931 wurde ich, Otto Hebauer, als Sohn des Landgerichtsdirektors Otto Hebauer und seiner Ehefrau Berta, geb. Eder, in Regensburg geboren. Im Jahre 1937 trat ich in die Volksschule Bamberg ein. Nach der Versetzung meines Vaters nach Regensburg besuchte ich bis 1941 die Volksschule und trat dann in die Oberrealschule über. Die Reifeprüfung legte ich im Jahre 1950 ab. Nach 2 Jahren landwirtschaftlicher Lehrzeit mit Gehilfenprüfung immatrikulierte ich mich im Winter-Semester 1952/53 an der Tierärztlichen Fakultät der Universität München. Nach dem Sommer-Semester 1954 legte ich das Physikum ab und unterzog mich nach dem Winter-Semester 1956/57 dem Staatsexamen.

Vom August bis Oktober 1957 war ich Praktikant am Institut für Tierpathologie der Tierärztlichen Fakultät. Mit den Arbeiten zur vorliegenden Dissertation war ich am Institut für Tierpathologie der Universität München unter Leitung von Herrn Professor Dr. H. Sedlmeier von Mai 1955 bis Dezember 1957 beschäftigt.

